

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANANDA PORTELLA FÉLIX

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA PARA  
CÃES**

CURITIBA

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANANDA PORTELLA FÉLIX

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA PARA  
CÃES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Produção Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka  
Co-orientadora: Dr. Cristina M. L. Sá-Fortes

CURITIBA

2011

Félix, Ananda Portella  
Avaliação nutricional de derivados protéicos de soja para  
cães / Ananda Portella Félix.— Curitiba, 2011.  
188 f.

Orientador: Alex Maiorka.  
Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Setor de  
Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Cão – Alimentação e rações. 2. Soja. I. Título.

CDU 636.7:614.95


## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

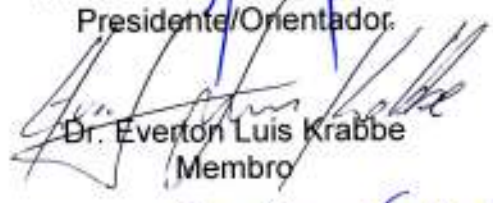


## PARECER

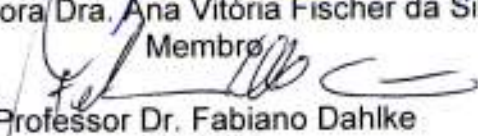
A Comissão Examinadora da Defesa da Tese intitulada **"AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DERIVADOS PROTEICOS DE SOJA PARA CÃES"** apresentada pela Doutoranda **ANANDA PORTELLA FÉLIX** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Doutor em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Produção Animal.

Curitiba, 7 de janeiro de 2011

  
Professor Dr. Alex Maiorka  
Presidente/Orientador.

  
Dr. Everton Luis Krabbe  
Membro

  
Professora Dra. Ana Vitória Fischer da Silva  
Membro

  
Professor Dr. Fabiano Dahlke  
Membro

  
Dra. Cristina Maria Lima Sá Fortes  
Membro



**Universidade Federal do Paraná**  
**Setor de Ciências Agrárias**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA**

### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 012/2008, referente ao projeto "Digestibilidade de produtos da soja para cães", sob a responsabilidade de Ananda Portella Félix, na forma em que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 15 de setembro de 2008. Este certificado expira em 15 de setembro de 2009.

### CERTIFICATE

We certify that the protocol number 012/2008, regarding the project "Digestibility of soy products for dogs", in charge of Ananda Portella Félix, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on September 15, 2008. This certificate expires on September, 2009.

Curitiba, 15 de setembro de 2008



Rogério Ribas Lange  
Presidente



Fabiano Montiani Ferreira  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná

*Dedico:*

*Aos amados pais Célia e Fernando*

*À querida família de Salesópolis*

*Aos queridos amigos de Curitiba*

*Aos amados cães*

## **Agradecimentos**

*Aos pais Célia e Fernando, pelo amor e apoio incondicionais.*

*Aos queridos afilhados, Mariana e Giovane, madrinhas Adriana e Cida, Avós Margarida, Nena e Sírío e demais familiares, por todo o carinho e apoio.*

*À família Maiorka: Prof.º Alex, Prof.ª Simone, Isabela e Fernanda por terem me acolhido em Curitiba e iluminado minha vida com muitas oportunidades, ensinamentos e amizade.*

*À família Brito: Cleusa, Jorge, Rafael e Felipe, pela imensa amizade e apoio.*

*À irmãzinha Aline pela eterna amizade, companheirismo, paciência e omeletes.*

*À grande amiga Leys, por toda sua amizade, companheirismo e ajuda fundamental no LENCUCAN.*

*Aos demais amigos do coração: Ju Comin, Carol Zan, Chay, Fran, Paulinha, Fabi Murakami, Tatinha, Tabyta, Daniele, Marina, Nancy, Larissa, Bruna, Lílian, Laura, Lidiane, Aline, Keila, Régis, Gustavo, Marcelo, Carlos, Fábio, Karla, Talita, Cristina Sá-Fortes, Marcelino Bortolo e Everton Krabbe, pela amizade e grande ajuda.*

*Aos amigos do LENCUCAN e LEPNAN.*

*Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal: Aldo, Hair, Marcelo e Ruy pelo auxílio nas análises laboratoriais. E ao Sr. Ismael da fábrica de ração da UFPR.*

*Aos mestres e amigos da UNESP-Ilha Solteira, por alicerçar minha formação em Zootecnia.*

*Aos amigos Marcelo Pacheco de Carvalho e Gabriela e colaboradores das Rações VB pela fundamental ajuda nos experimentos.*

*À Drª Maria Inês G. Rodriguez e Lúcia Justino da USP e ao Dr. José Marcos G. Mandarinho da EMBRAPA Soja, pelo auxílio com as análises.*

*À Capes, Sr. Sioji, Perdigão, Nutriara, Imcopa, Canil Rancho da Pedra e AB Vista pelo auxílio nas pesquisas.*

*Aos amados cães: Fofinha, Crica, Florzinha, Hanna, Tati, Melzinha, Grace, Vampi, Estrela, Romeu, Belinho, Josézinho, Rufi, Bob, Tadeu, Nandinha, Lua, Narizinho, Fiona, Lady, Chay, Chiquinha, Duda, Feliz, Dumbo, Taz, Pongo, Snoop, Bidu, Zorro e Teddy. Meus amores, minhas alegrias, meus grandes amigos!*

*À Deus e São Francisco de Assis por iluminar meu caminho e me inspirar a fazer o que eu mais amo no mundo!*

**Muito obrigada à todos por fazerem parte da minha vida!**

Ananda Portella Félix

## **Oração da Paz**

Senhor! Fazei de mim um instrumento da vossa paz.

Onde houver ódio, que eu leve o amor.

Onde houver ofensa, que eu leve o perdão.

Onde houver discórdia, que eu leve a união.

Onde houver dúvidas, que eu leve a fé.

Onde houver erro, que eu leve a verdade.

Onde houver desespero, que eu leve a esperança.

Onde houver tristeza, que eu leve a alegria.

Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ó Mestre, fazei que eu procure mais:

consolar, que ser consolado;

compreender, que ser compreendido;

amar, que ser amado.

Pois é dando que se recebe.

É perdoando que se é perdoado.

E é morrendo que se vive para a vida eterna.

São Francisco de Assis



## SUMÁRIO

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

### LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>RESUMO.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
 <b>CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	 <b>3</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Revisão de literatura.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Produção de alimentos para cães.....</b>	<b>4</b>
2.1.1 <i>Extrusão.....</i>	5
2.1.1.1 <i>Principais alterações dos nutrientes durante a extrusão....</i>	7
2.1.1.1.1 <i>Gelatinização do amido.....</i>	7
2.1.1.1.2 <i>Desnaturação protéica.....</i>	7
<b>2.2 Características do sistema gastrintestinal dos cães.....</b>	<b>8</b>
2.2.1. <i>Efeito da idade sobre a fisiologia digestiva.....</i>	12
<b>2.3 Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães.....</b>	<b>15</b>
2.3.1 <i>Olfato.....</i>	17
2.3.2 <i>Paladar.....</i>	18
2.3.3 <i>Tato.....</i>	19
2.3.4 <i>Preferências alimentares de cães.....</i>	20
<b>2.4 Fontes protéicas.....</b>	<b>21</b>
<b>2.5 Soja [<i>Glycine Max</i> (L.) Merrill].....</b>	<b>23</b>
2.5.1 <i>Fatores antinutricionais da soja.....</i>	25
2.5.1.1 <i>Inibidores de proteases.....</i>	26
2.5.1.1.1 <i>Inativação dos inibidores de proteases.....</i>	27
2.5.1.1.2 <i>Aferição da inativação dos inibidores de protease</i>	29
2.5.1.2 <i>Carboidratos indigestíveis.....</i>	31
2.5.1.2.1 <i>Polissacarídeos pécnicos.....</i>	32
2.5.1.2.2 <i>Polímeros não-celulósicos.....</i>	32

2.5.1.2.2.1 $\beta$ -mananas.....	33
2.5.1.2.2.2 Oligossacarídeos.....	34
2.5.1.2.3 Efeitos fisiológicos dos carboidratos indigestíveis.....	35
2.5.2 Processamento da soja.....	37
2.5.2.1 Soja tostada.....	38
2.5.2.2 Farelo de soja.....	38
2.5.2.3 Farinha desengordurada de soja.....	39
2.5.2.4 Soja micronizada.....	39
2.5.2.5 Concentrado protéico de soja (CPS).....	40
2.5.2.6 Proteína isolada de soja (PIS).....	41
2.5.3 Digestibilidade.....	41
<b>2.6 Uso de enzimas exógenas na alimentação de cães.....</b>	<b>44</b>
2.6.1 Produção de enzimas exógenas.....	45
2.6.2 Efeito das enzimas exógenas sobre a digestibilidade.....	45
<b>2.7 Metodologias para avaliação nutricional de alimentos em cães.....</b>	<b>47</b>
2.7.1 Digestibilidade.....	47
2.7.1.1 Método da coleta total de fezes.....	47
2.7.1.2 Método dos indicadores.....	48
2.7.1.2.1 CIA.....	49
2.7.1.2.2 FB.....	51
2.7.2 Métodos para determinação da digestibilidade de ingredientes.....	51
2.7.2.1 Método direto.....	52
2.7.2.2 Método da diferença.....	53
2.7.2.2 Método da regressão.....	53
2.7.2.4 Método da substituição.....	55
2.7.3 Avaliação da produção de gás intestinal.....	56
2.7.4 Avaliação da qualidade das fezes.....	56
<b>3. Considerações finais.....</b>	<b>59</b>
<b>4. Referências.....</b>	<b>60</b>

<b>CAPÍTULO II - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA CÃES.....</b>	<b>72</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>72</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>72</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>73</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>74</b>
<i>2.1 Ingredientes e dietas experimentais .....</i>	<i>74</i>
<i>2.2 Análises laboratoriais.....</i>	<i>75</i>
<i>2.3 Análise estatística.....</i>	<i>76</i>
<b>3. Resultados.....</b>	<b>76</b>
<b>4. Discussão.....</b>	<b>79</b>
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>81</b>
<b>6. Referências.....</b>	<b>82</b>

<b>CAPÍTULO III - VALOR NUTRICIONAL DA SOJA CRUA SUBMETIDA A DIFERENTES PROCESSAMENTOS PARA CÃES ADULTOS E FILHOTES..</b>	<b>84</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>84</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>84</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>85</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>86</b>
<i>2.1 Animais e instalações .....</i>	<i>86</i>
<i>2.2 Dietas.....</i>	<i>86</i>
<i>2.3 Digestibilidade.....</i>	<i>89</i>
<i>2.4 Características das fezes.....</i>	<i>89</i>
<i>2.5 Análises laboratoriais.....</i>	<i>89</i>
<i>2.6 Cálculos e Análise estatística.....</i>	<i>90</i>
<b>3. Resultados.....</b>	<b>91</b>
<b>4. Discussão.....</b>	<b>94</b>
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>99</b>
<b>6. Referências.....</b>	<b>99</b>

<b>CAPÍTULO IV - EXTRAÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS DA SOJA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, CARACTERÍSTICAS DAS FEZES E PRODUÇÃO DE GÁS INTESTINAL EM CÃES.....</b>	<b>103</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>103</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>103</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>104</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>105</b>
2.1 Animais e instalações .....	105
2.2 Dietas.....	106
2.3 Digestibilidade.....	108
2.4 Características das fezes.....	109
2.5 Análises laboratoriais.....	109
2.6 Mensuração da produção de gás intestinal.....	110
2.7 Cálculos e Análise estatística.....	110
<b>3. Resultados.....</b>	<b>111</b>
3.1 Digestibilidade.....	111
3.2 Características das fezes.....	113
3.3 Produção de gás intestinal.....	113
<b>4. Discussão.....</b>	<b>114</b>
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>119</b>

<b>CAPÍTULO V - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE FARELOS DE SOJA EM DIETAS PARA CÃES COM OU SEM INCLUSÃO DE CARBOIDRASES.....</b>	<b>122</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>122</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>122</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>123</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>124</b>
2.1 Animais e instalações .....	124
2.2 Dietas.....	125
2.3 Digestibilidade.....	127
2.4 Características das fezes.....	127
2.5 Análises laboratoriais.....	127

2.6 <i>Palatabilidade</i> .....	128
2.7 <i>Cálculos e Análise estatística</i> .....	128
<b>3. Resultados</b> .....	129
3.1 <i>Digestibilidade</i> .....	129
3.2 <i>Características das fezes</i> .....	131
3.3 <i>Palatabilidade</i> .....	132
<b>4. Discussão</b> .....	134
<b>5. Conclusões</b> .....	137
<b>6. Referências</b> .....	137

<b>CAPÍTULO VI - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE FARELOS DE SOJA EM DIETAS PARA CÃES COM OU SEM INCLUSÃO DE CARBOIDRASES</b> .....	140
<b>Resumo</b> .....	140
<b>Abstract</b> .....	140
<b>1. Introdução</b> .....	141
<b>2. Material e Métodos</b> .....	142
2.1 <i>Animais e instalações</i> .....	142
2.2 <i>Dietas</i> .....	142
2.3 <i>Digestibilidade</i> .....	143
2.4 <i>Características das fezes</i> .....	144
2.5 <i>Análises laboratoriais</i> .....	144
2.7 <i>Cálculos e Análise estatística</i> .....	145
<b>3. Resultados</b> .....	146
3.1 <i>Digestibilidade</i> .....	146
3.2 <i>Características das fezes</i> .....	147
<b>4. Discussão</b> .....	152
4.1 <i>Digestibilidade</i> .....	152
4.2 <i>Características das fezes</i> .....	155
<b>5. Conclusões</b> .....	156
<b>6. Referências</b> .....	156
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	159

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Figura 1. Sistema gastrintestinal do cão.....	8
Figura 2. Estrutura da cadeia de galactomanana.....	34
Figura 3. Principais oligossacarídeos da soja.....	34
Figura 4. Fluxograma de processamento da soja grão para obtenção de derivados de soja (em negrito) utilizados na alimentação de cães.....	37
Figura 5. Detalhe de radiografia abdominal de cão da raça Beagle.....	57

### **CAPÍTULO V - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE FARELOS DE SOJA EM DIETAS PARA CÃES COM OU SEM INCLUSÃO DE CARBOIDRASES**

Figura 1. Número de visitas ao comedouro em dietas confrontadas em par contendo ou não farelo de soja 46% (FS) e 50% (FSH) e 0,20% de enzimas (E) (n=40).....	133
Figura 2. Consumo de dietas confrontadas em par contendo ou não farelo de soja 46% (FS) e 50% (FSH) e 0,20% de enzimas (E) (n=40).....	133

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Tabela 1. Fatores que influenciam o consumo voluntário de alimentos por cães.....	16
Tabela 2. Principais sistemas neurais receptores de sabor em cães.....	19
Tabela 3. Recomendação diária de proteína bruta (PB) e aminoácidos essenciais para cães (g/kg peso corporal <sup>0,75</sup> ).....	21
Tabela 4. Proteína bruta (PB) e aminoácidos essenciais (expressos em % da matéria seca) de fontes protéicas de origem animal e vegetal.....	22
Tabela 5. Níveis de monômeros e polímeros de carboidratos presentes no grão de soja (% expressa na matéria seca).....	31
Tabela 6. Composição química (% da matéria natural) de derivados protéicos de soja.....	37
Tabela 7. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da proteína bruta de dietas contendo derivados de soja como principal fonte protéica em cães.....	42

### **CAPÍTULO II - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA CÃES**

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência....	75
Tabela 2. Composição química de derivados protéicos da soja na matéria natural.....	77
Tabela 3. Características físico-químicas de derivados protéicos de soja e das rações fareladas e extrusadas.....	78
Tabela 4. Correlação entre o teor de extrato etéreo em hidrólise ácida da ração e as características físicas do extrusado.....	78

### **CAPÍTULO III - VALOR NUTRICIONAL DA SOJA CRUA SUBMETIDA A DIFERENTES PROCESSAMENTOS PARA CÃES ADULTOS E FILHOTES**

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência...	87
Tabela 2. Composição química (expressa na matéria seca) e parâmetros qualitativos dos derivados protéicos da soja.....	88
Tabela 3. Atividades ureásica ( $\Delta$ pH) e inibitória de tripsina (mg/g) de dietas fareladas (FAR) e extrusadas (EXT) contendo 30% de derivados protéicos de soja.....	91

Tabela 4. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA), extrativos não-nitrogenados (ENN), energia bruta (EB) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de derivados protéicos de soja (DS) em cães de diferentes idades (I).....	92
Tabela 5. Valores médios de proteína, extrato etéreo em hidrólise ácida e energia digestíveis (expressos na matéria seca) de derivados protéicos de soja para cães adultos e filhotes.....	93
Tabela 6. Características das fezes de cães de diferentes idades (I) alimentados com uma ração referência e dietas (D) contendo 30% de derivados de soja.....	94

#### **CAPÍTULO IV - EXTRAÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS DA SOJA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, CARACTERÍSTICAS DAS FEZES E PRODUÇÃO DE GÁS INTESTINAL EM CÃES**

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência....	107
Tabela 2. Composição química (expressa na matéria seca) e parâmetros qualitativos dos derivados protéicos da soja.....	108
Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de derivados protéicos de soja em cães.....	112
Tabela 4. Valores de proteína, extrato etéreo em hidrólise ácida e energia digestíveis de derivados da soja para cães (expressos na matéria seca).....	112
Tabela 5. Características das fezes de cães alimentados com uma dieta referência e contendo 30% de um derivado de soja.....	113
Tabela 6. Área e escore de gás intestinal de cães alimentados com dieta referência e contendo 30% de um derivado de soja.....	114
Tabela 7. Correlação entre os açúcares totais da dieta, índice de proteína dispersível (IPD) e proteína solúvel em KOH (PSKOH) e as características das fezes, diferença ( $\Delta$ ) na área de gás intestinal e coeficientes de digestibilidade aparente (CDA).....	114



## **CAPÍTULO V - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE FARELOS DE SOJA EM DIETAS PARA CÃES COM OU SEM INCLUSÃO DE CARBOIDRASES**

Tabela 1. Composição química (expressa na matéria natural) e parâmetros qualitativos dos farelos de soja 46% e 50%.....	125
Tabela 2. Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.....	126
Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja 46% e <i>blend</i> enzimático...	130
Tabela 4. Interação entre farelo de soja 46% e <i>blend</i> enzimático sobre a energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães.....	130
Tabela 5. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja <i>Hi-pro</i> (50%) e <i>blend</i> enzimático.....	131
Tabela 6. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja 46% e <i>blend</i> enzimático.....	132
Tabela 7. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja <i>Hi-pro</i> (50%) e <i>blend</i> enzimático.....	132

## **CAPÍTULO VI - EFEITO DA $\beta$ -MANANASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DE FONTES PROTÉICAS EM CÃES DETERMINADA POR DIFERENTES METODOLOGIAS**

Tabela 1. Composição química (expressa na matéria natural) das fontes protéica e parâmetros qualitativos do farelo de soja.....	143
Tabela 2. Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.....	145
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) avaliados por diferentes metodologias e energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães alimentados com dietas contendo farinha de vísceras de aves (FVA) ou farelo de soja (FS) como principal fonte protéica, adicionadas ou não de $\beta$ -mananase.....	148

Tabela 4. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo farinha de vísceras de aves (FVA) ou farelo de soja (FS), como principal fonte protéica, suplementadas ou não com $\beta$ -mananase.....	149
Tabela 5. Interação entre fonte protéica e $\beta$ -mananase sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %), energia metabolizável (kcal/kg) e produção de fezes na matéria natural (MN) em cães.....	150
Tabela 6. Interação entre fonte protéica e métodos de determinação da digestibilidade sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães.....	151

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Tabela 1. Composição química, coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e de metabolização da energia (CME), energia metabolizável (EM) e nutrientes digestíveis de derivados protéicos de soja para cães adultos.....	160
---	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A - adultos

AGCC – ácidos graxos de cadeia curta

Am – amônia

CDA – coeficiente de digestibilidade aparente

CDA<sub>DT</sub> - coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta teste

CDA<sub>B</sub> - coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente basal

CDA<sub>T</sub> - coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente teste

CDA<sub>D</sub> - coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta

CDrr – coeficiente de digestibilidade aparente da ração referência

CDing – coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente

CF – características das fezes

CFQ – características físico-químicas

CIA – cinza insolúvel em ácido

CIAC – cinza insolúvel em ácido corrigida

CMS – consumo de matéria seca

CONC<sub>T</sub> - concentração (g/kg) do nutriente no ingrediente teste

CONT<sub>T</sub> - contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente teste na dieta teste

CONT<sub>B</sub> - contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente basal na dieta teste

CPS – concentrado protéico de soja

CPSH – concentrado protéico de soja hidrolisado

CTF – coleta total de fezes

CV – coeficiente de variação

E - enzima

EB – energia bruta

EEA – extrato etéreo hidrólise ácida

EM – energia metabolizável

ENN – extrativos não nitrogenados

EPM - erro padrão da média

Esc - escore

EXT – extrusada

F – filhotes

FAR - farelada

FB – fibra bruta  
FDA - fibra em detergente ácido  
FDN - fibra em detergente neutro  
FDS – farinha desengordurada de soja  
FS – farelo de soja  
FSH – farelo de soja Hi-pro  
FVA – farinha de vísceras de aves  
GGA – grau de gelatinização do amido  
IAA – índice de absorção de água  
 $I_T$  = Nível de inclusão (%) do ingrediente teste na dieta  
IPD – índice de proteína dispersível  
IT – inibidor de tripsina  
MM – matéria mineral  
MO – matéria orgânica  
MS – matéria seca  
ND – nutrientes digestíveis  
NEM – necessidade de energia metabolizável  
Olig. Oligossacarídeos  
P - probabilidade  
PB – proteína bruta  
PGI – produção de gás intestinal  
PIS – proteína isolada de soja  
PNA – polissacarídeos não-amiláceos  
Pro – produção de fezes  
PSKOH – proteína solúvel em KOH  
REF - referência  
SGC – soja grão cru  
SGI – sistema gastrintestinal  
SGT – soja grão tostado  
SM – soja micronizada  
UFC – unidades formadoras de colônias  
UIT – unidades inibitórias de tripsina

## **AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA PARA CÃES**

### **RESUMO**

O grão de soja apresenta elevado teor protéico e energético, entretanto, possui fatores antidualitativos, como o inibidor de tripsina (IT) e oligossacarídeos (Olig.), que limitam seu uso na alimentação de cães. O processamento térmico do grão de soja pode desnaturar o IT, gerando o farelo (FS), farinha desengordurada (FDS), grão tostado (SGT) e a soja micronizada (SM). Já, os Olig. podem ser extraídos com solução de etanol, produzindo os concentrados protéicos (CPS) e a proteína isolada de soja (PIS). Diante do exposto, objetivou-se avaliar diversos processamentos da soja sobre as características físico-químicas dos alimentos (CFQ), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), energia metabolizável (EM), características das fezes (CF), gás intestinal (GI) e palatabilidade em cães, bem como metodologias para aferição de seu valor nutricional. Foram determinados os CDA, EM e CF em seis cães adultos e seis filhotes alimentados com seis dietas extrusadas: uma referência (REF) e cinco contendo 30% de: FDS, SM, FS, SGT e SG cru (SGC). Também foram avaliadas as CFQ dessas dietas, revelando que altos teores de lipídeos (SGT, SGC e SM) prejudicam a qualidade do extrusado, não havendo completa desativação do IT na dieta com SGC. Os CDA da proteína bruta (PB) da FDS, FS, SM, SGT e SGC foram, respectivamente, 85,1; 85,2; 88,4; 84,7 e 78,9% para os cães adultos (sem diferença para os filhotes). A SM apresentou a maior EM (5112,4 kcal/kg) e a FDS a menor (3639,1 kcal/kg). Os cães filhotes digeriram mais os lipídios da dieta, entretanto, produziram fezes com maior teor de umidade, menor pH e maior teor de amônia, que cães adultos. No terceiro estudo foram avaliados os CDA, EM, CF e GI em cães adultos alimentados com uma dieta REF e cinco com 30% de: FS 50% PB (FSH), CPS 60% PB (CPS60), CPS 70% PB (CPS70), CPS hidrolisado 70% PB (CPSH70) e PIS, os quais apresentaram CDA da PB de: 89,8, 83,9, 90,6, 85,2 e 98,8%, respectivamente. A PIS apresentou a maior EM (5479,7kcal/kg) e o CPS60 a menor (3382,5kcal/kg). Os cães alimentados com FSH apresentaram a maior produção de gás intestinal e os demais não diferiram entre si. No quarto experimento avaliou-se os CDA, EM, CF e palatabilidade em cães alimentados com dietas contendo 0, 15 e 30% de FS e FSH, com ou sem 0,2% de carboidratos (E). O uso de E aumentou o CDA da PB e a EM na dieta com FS. Houve preferência pela dieta contendo 30% FSH e as suplementadas com E. O quinto experimento avaliou os CDA e a EM aferidos pela coleta total de fezes ou indicadores fibra bruta (FB) e cinza insolúvel em ácido (CIA), em dietas com 0% ou 30% FS com ou sem 0,01% de  $\beta$ -mananase (BM) em oito cães adultos. O uso de BM aumentou os CDAs e a EM (+195,3kcal/kg) da dieta com 30% FS. A CIA superestimou os CDA e a EM da dieta com 0% FS, mas foi adequada, assim como a FB, na aferição dos CDA da dieta com 30% FS. Considerando todos os estudos, os derivados de soja reduziram a consistência, escore e pH fecal (com exceção da PIS), sem melhoria com o uso de enzimas. No entanto, podem reduzir o teor de amônia das fezes dos cães. Derivados protéicos de soja, de modo geral, são fontes protéicas de alta digestibilidade para cães adultos e filhotes, mas podem reduzir a consistência das fezes dos cães.

Palavras-chave: Digestibilidade. Enzimas. Inibidor de tripsina. Oligossacarídeos.

## NUTRITIONAL EVALUATION OF SOYBEAN PROTEIN PRODUCTS TO DOGS

### ABSTRACT

The soybean has a high concentration of protein and energy, however, has antinutritional factors such as trypsin inhibitor (TI) and oligosaccharides (Olig.), which limits its use in dog foods. Heat processing of soybean can denature the TI, generating the meal (SBM), defatted flour (DSF), toasted soybeans (TSB) and micronized soybeans (MS). Therefore, the Oligo. can be extracted with ethanol solution, producing protein concentrates (SPC) and soy protein isolate (SPI). The present study aimed to evaluate soybeans submitted to different processing on the physical and chemical characteristics of food (PCC), apparent digestibility coefficients (ADC), metabolizable energy (ME), fecal characteristics (FC), intestinal gas (IG) and palatability in dogs, as well as methodologies for measuring its nutritional value. The ADC, ME and FC were determined in six adult dogs and six puppies fed six extruded diets: a reference (REF) and five containing 30%: DSF, SBM, MS, TSB and raw soybeans (RSB). The PCC were also evaluated in these diets, revealing that high fat levels (MSB, TSB and RSB) reduced kibble quality and incomplete deactivated TI in the diet with RSB. The ADC of crude protein (CP) of DSF, SBM, MS, TSB and RSB were, respectively, 85.1, 85.2, 88.4, 84.7 and 78.9% for adult dogs (no difference for pups). The MS had the highest ME (5112.4 kcal/kg) and DSF, the lowest ME (3639.1 kcal/kg). Puppy dogs digested higher dietetic fat, however, produced feces with high moisture content, with lower pH and with higher ammonia content, than adult dogs. In the third study the ADC, ME, FC and IG were accessed in adult dogs fed a REF diet and five diets with 30%: SBM 50% CP (HSBM), SPC 60% CP (SPC60), SPC 70% CP (SPC70), SPC hydrolyzed 70% CP (SPCH70) and SPI, which showed CP ADC of: 89.8, 83.9, 90.6, 85.2 and 98.8%, respectively. The SPI had the highest ME (5479.7 kcal/kg) and SPC60 the lowest (3382.5 kcal/kg). Dogs fed HSBM had the highest production of IG and the other treatments did not differ. The fourth experiment evaluated the ADC, ME, FC and palatability in dogs fed diets containing 0, 15 and 30% SBM and HSBM, with or without 0.2% carbohydrases (E). The use of E increased ADC of CP and ME in the diet with SBM. Dogs showed preference for the diet containing 30% HSBM supplemented with E. The fifth experiment tested the ADC and ME measured by total fecal collection or indicators crude fiber (CF) and acid insoluble ash (AIA) in diets containing 0% or 30% SBM with or without 0.01%  $\beta$ -mannanase (BM) in eight adult dogs. The use of BM increased the ADCs and ME (+195.3 kcal/kg) in diet with 30% SBM. The AIA overestimated the ADC of the diet containing 0% SBM, but was as good as CF, in measuring the ADC of diet with 30% SBM. Considering all the studies, soy products reduced the fecal consistency and pH (except for SPI), with no improvement with the use of enzymes. However, they may reduce fecal ammonia content. Soy protein products, in general, are high digestible protein sources for adult and puppy dogs, but may reduce fecal consistency of the dogs.

**Keywords:** Digestibility. Enzymes. Oligosaccharides. Trypsin inhibitor.

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1. Introdução**

O conhecimento do valor nutricional dos ingredientes é indispensável para a formulação de dietas balanceadas para cães. Entretanto, a maioria dos ensaios de metabolismo avalia o efeito da inclusão do ingrediente sobre o aproveitamento nutricional da dieta e não o ingrediente em particular. A falta de padronização e definição de metodologias precisas, exatas e exequíveis para aferição da digestibilidade e energia metabolizável de ingredientes em cães, contribuem para a escassez de dados sobre o assunto, principalmente para filhotes. Fato este relevante ao considerar a possível distinta capacidade de assimilação dos nutrientes por animais em crescimento, em relação aos adultos (Fahey et al., 2008), devendo isso ser considerado em formulações específicas para esse estágio fisiológico.

Dentre os ingredientes protéicos utilizados em alimentos comerciais para cães, os derivados de soja tem se destacado nos últimos anos, em função do alto teor (36,0% a 90,0%) e qualidade da proteína destes. Além disso, por apresentarem alta relação proteína:minerais (7:1 a 20:1), sua combinação à co-produtos de origem animal na formulação, tem possibilitado a ponderação entre os níveis protéicos e os macrominerais das dietas comerciais para cães. Apesar disso, o fato dos ingredientes de origem vegetal serem reconhecidos como menos palatáveis para cães, em comparação aos de origem animal (Houpt et al., 1978), somado a presença de fatores antinutricionais, tem limitado seu uso na alimentação de cães.

Os principais fatores antinutricionais termolábeis presentes na soja crua são os inibidores de proteases, os quais são deletérios à digestão protéica, mas podem ser desnaturados com o processamento térmico do grão de soja (Liener, 1994). Porém, é importante que o processamento da soja seja bem controlado, já que o subaquecimento ou superaquecimento podem reduzir o aproveitamento de seus nutrientes pelos animais (Heidenreich, 1994).

Já, os oligossacarídeos e os polissacarídeos não-amiláceos solúveis (PNAs) podem ser considerados os principais fatores antinutricionais termoestáveis. Estes podem aumentar a viscosidade da digesta, prejudicando a digestão dos nutrientes e resultar na produção de fezes em maior volume e menos consistentes pelos cães

(Oakenfull, 1993; Yamka et al., 2003). Como são temerresistentes, sua remoção pode ser feita por meio da solubilização desses carboidratos com solução de etanol, gerando o concentrado protéico e a proteína isolada de soja (Lusas & Riaz, 1995).

Alternativa para minimizar os efeitos adversos dos PNAs e oligossacarídeos da soja, seria o uso de carboidrases exógenas, o qual tem demonstrado aumento do aproveitamento nutricional de dietas com alto teor desses compostos em aves e suínos (Jackson et al., 2004; Kim et al., 2006; Zou et al., 2006; Li et al., 2010). Entretanto, os resultados do uso de enzimas exógenas sobre a digestibilidade dos nutrientes de dietas para cães ainda são inconsistentes, em virtude do restrito número de trabalhos (Twomey et al., 2003; Yamka et al., 2006).

Assim, considerando a importância nutricional da soja, a escassez de informações sobre a digestibilidade específica de seus derivados em cães e a necessidade de se aprimorar metodologias para aferição da sua qualidade nutricional, desenvolveu-se o presente estudo. Objetivou-se, portanto, avaliar a digestibilidade, energia metabolizável, palatabilidade, produção de gás intestinal e características das fezes em cães alimentados com distintos derivados protéicos de soja, suplementados ou não com enzimas e investigar diferentes metodologias de avaliação do valor nutricional desses ingredientes em cães.

## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1 Produção de alimentos para cães**

Os cães foram domesticados há mais de 10.000 anos (Pond et al., 1995) e desde então representam importante papel na vida dos seres humanos, suprimindo carências e contribuindo para amenizar situações de estresse. Desse modo, cada vez mais são considerados membros da família e como tal, busca-se lhes fornecer alimentos de alta qualidade, que atendam suas necessidades nutricionais e promovam sua saúde e longevidade.

O segmento brasileiro de alimentos para animais de companhia tem apresentado expressivo crescimento nos últimos anos. Segundo dados da ANFAL PET (2010), o Brasil apresenta a segunda maior população mundial de cães (33



milhões) e gatos (17 milhões), com produção de 1,75 milhões de toneladas de alimentos para animais de estimação e faturamento de US\$ 3,3 bilhões em 2009. Em virtude disso, surge no mercado ampla variedade de alimentos para cães, contemplando diferentes marcas e segmentos de mercado. Desses alimentos, mais de 90% são extrusados (Saad et al., 2005).

### 2.1.1 Extrusão

O processo de extrusão permitiu o crescimento do mercado de alimentos para animais de companhia, pois possibilitou a inclusão de ingredientes de menor custo como, cereais, fontes protéicas de origem vegetal e farinhas de origem animal nas dietas para cães e gatos. O primeiro alimento extrusado foi desenvolvido há mais de 50 anos pela *Ralston Purina Company* e desde então é o principal processo para fabricação de alimentos para animais de estimação (Saad et al., 2005).

A extrusora é composta, basicamente, por um silo de alimentação, um pré-condicionador, um cilindro (canhão) com barreiras multi-segmentadas com uma rosca sem fim no centro e um mecanismo de corte. Previamente à extrusão, a mistura moída de ingredientes é homogeneizada com água e aquecida (60°C, aproximadamente) no pré-condicionador. Após, a massa pré-cozida é direcionada ao canhão da extrusora, onde é submetida à alta temperatura (110 à 200°C) e pressão de cisalhamento (34 à 37 atm), pela ação da rosca sem fim, durante 60 a 270 segundos. A rosca sem fim impulsiona a mistura de ingredientes umedecidos contra uma matriz. Ao passar pela matriz, o alimento é cortado e expande, formando os extrusados, que serão encaminhados à secadora (alimentos secos), recobrimento com gordura, resfriamento, aplicação de palatabilizante e embalagem (Holey & Harper, 1982).

A transformação do material durante o processo de extrusão ocorre, basicamente, em três etapas: plastificação, na qual o material sólido torna-se um líquido homogêneo pelo fundimento; modelagem do material fundido pela passagem através da matriz e a expansão (texturização) do produto, causada pela despressurização (Lin et al., 1997).

A extrusão pode ser considerada uma das etapas mais críticas e importantes do processamento de dietas para cães. O controle do processo, como taxa de alimentação, taxa de rotação da rosca, umidade e temperatura são determinantes ao grau de cocção do alimento. Desse modo, essas variáveis afetam diretamente a

qualidade do produto, como: gelatinização do amido, exposição dos nutrientes contidos nas células vegetais à digestão, inativação de compostos antinutricionais, destruição de microrganismos, desnaturação de proteínas, perdas de aminoácidos e vitaminas e formação de compostos indigestíveis (Holey & Harper, 1982).

Além dos fatores supracitados, os ingredientes da fórmula também podem influenciar a qualidade da extrusão e, por conseguinte, a qualidade da dieta produzida. Dietas mal extrusadas, ou seja, com cocção inadequada, podem prejudicar o aproveitamento dos nutrientes, devido à baixa gelatinização do amido, quando em subprocessamento ou à desnaturação protéica excessiva e à formação de compostos indisponíveis, quando em superprocessamento (Sá-Fortes, 2005).

Variáveis de processamento e a inclusão de lipídeos foram investigadas por Lin et al. (1997) em dietas extrusadas para cães. Os autores relataram redução no grau de gelatinização do amido com o aumento no teor de gordura (2,5% à 7,5%) da dieta. Esse efeito foi mais pronunciado nas dietas contendo sebo bovino, em relação ao óleo de frango, extrusadas com maior taxa de rotação da rosca (200 à 400rpm). Além disso, o aumento no teor de umidade (16% à 20,0%) também reduziu a gelatinização do amido.

Segundo os autores, os lipídios apresentam ação lubrificante no interior do canhão da extrusora, reduzindo o atrito e, portanto, prejudicando o aumento da pressão e temperatura e a absorção de água pelos grânulos de amido. Além disso, o maior teor de água associado à rápida taxa de rotação da rosca, reduzem o tempo de permanência dos ingredientes no canhão da extrusora, prejudicando a cocção do alimento. Portanto, formulações contendo alto teor de lipídios, extrusadas com alto teor de umidade e em alta taxa de rotação da rosca resultam em extrusados mal formados e contendo menor teor de amido gelatinizado, o que pode comprometer o aproveitamento nutricional da dieta pelos cães.

Em virtude da relativa dificuldade e longo tempo despendido para determinação do grau de gelatinização do amido, análises mais práticas também podem ser realizadas para avaliação da qualidade do processo de extrusão. Dentre essas, cabe citar a análise da densidade, índice de absorção de água e dureza dos extrusados. Extrusados menos densos, com maior índice de absorção de água e de maior dureza, podem representar adequada cocção do alimento e, por conseguinte, alta gelatinização do amido. Essas características são devidas ao amido gelatinizado

apresentar maior porosidade e capacidade de formação de pontes de hidrogênio com a água, além de tornar o extrusado mais coeso (menos quebradiço).

#### *2.1.1.1 Principais alterações dos nutrientes durante a extrusão*

As principais alterações nutricionais que ocorrem durante a extrusão são a gelatinização do amido, desnaturação protéica, reação de Maillard, formação de complexos entre a amilose e lipídios e entre proteínas e lipídios e perdas de vitaminas.

##### *2.1.1.1.1 Gelatinização do amido*

Em virtude da reduzida capacidade digestiva do amido em cães, este deve ser termicamente processado para se tornar mais susceptível à ação da amilase pancreática. A gelatinização é definida como o processo de transformação do amido granular em pasta viscoelástica solúvel. Durante o aquecimento de dispersões de amido em excesso de água (maior que 60%) ocorre rompimento das ligações de hidrogênio mais fracas entre as cadeias de amilose e amilopectina. Isso resulta em intumescimento dos grânulos, com destruição da ordem molecular e mudanças irreversíveis nas suas propriedades (Holay & Harper, 1982; Lin et al., 1997).

##### *2.1.1.1.2 Desnaturação Protéica*

As macromoléculas de proteína formam estrutura globular tridimensional amorfa e organizada, as quais podem tornar-se massa plasticizada em temperaturas elevadas. Com o efeito da temperatura e pressão da extrusora, as cadeias protéicas são desnaturadas, ocorrendo desenrolamento da proteína e perda de sua forma globular tridimensional. Isso ocorre, em virtude do rompimento de ligações iônicas, dissulfídicas, de hidrogênio e forças de Van der Waals que mantinham sua estrutura nativa (Bataglia, 1990).

A desnaturação protéica moderada pode melhorar a digestibilidade dessa fração, promovendo maior aproveitamento dos aminoácidos pelo organismo. Por outro lado, o processamento térmico excessivo, pode resultar na complexação de açúcares (glicose, maltose) com grupos amino livres, como os da lisina (Reação de Maillard), reduzindo a disponibilidade da proteína dietética. Além disso, podem ocorrer ligações cruzadas entre certos aminoácidos e peptídeos, gerando compostos indisponíveis ao organismo, como a lisinoalanina (Cowel et al., 2000) e a

polimerização protéica decorrida da reação de troca de pontes dissulfeto intermoleculares (Caprita & Caprita, 2010).

## 2.2 Características do sistema gastrointestinal dos cães

Os cães são animais basicamente carnívoros, apresentando sistema gastrointestinal (SGI) curto e relativamente simples (Figura 1) e dentes caninos desenvolvidos, adaptados a este tipo de alimentação. Sua digestão é principalmente enzimática, com baixa fermentação microbiana, sendo a ação enzimática adaptada principalmente para digestão de proteínas e lipídeos (Case et al., 1998). Comparados com numerosas espécies herbívoras ruminantes e não-ruminantes, que mastigam completamente o seu alimento, os cães usualmente deglutem grandes porções da refeição com pouca ou nenhuma mastigação. Dessa forma, o SGI do cão lhe permite devorar alimentos abundantes de forma intermitente.

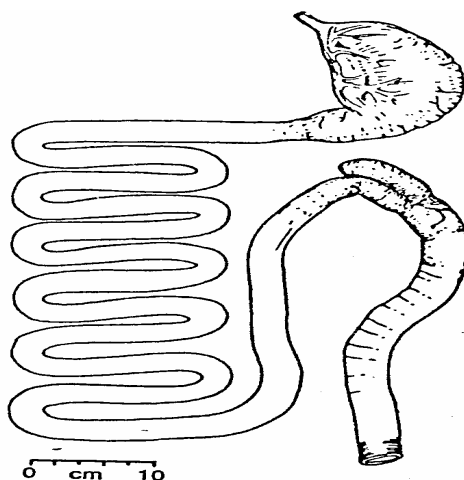


Figura 1. Sistema gastrointestinal do cão (Pond et al., 1995).

O estômago de cães é constituído basicamente pelas seções proximal e distal. A porção proximal do estômago expande durante a refeição, permitindo o armazenamento de grandes volumes de alimento. Em cães, o processo de digestão se inicia efetivamente no estômago, por meio de hidrólise ácida por HCl (pH 2,0, em média) e ação da pepsina, sobre proteínas e lipase gástrica, sobre lipídeos. A secreção gástrica é influenciada pelo volume de alimento e quantidade de proteína ingerida e pela ação hormonal, principalmente acetilcolina e secretina, que estimulam e inibem, respectivamente a liberação de gastrina e HCl (NRC, 2006).

À medida que o conteúdo ácido do estômago passa para o intestino delgado, seu baixo pH estimula a secreção para o sangue de secretina, a qual estimula o pâncreas a secretar bicarbonato no intestino delgado, a fim de neutralizar o HCl gástrico, aumentando o pH para 6,2, aproximadamente (NRC, 2006). A entrada de aminoácidos no duodeno libera o hormônio colecistoquinina, o qual estimula a secreção de enzimas (lipase, co-lipase,  $\alpha$ -amilase, etc) e zimogênios pelo pâncreas, os quais serão hidrolisados no lúmen pela enteroquinase para as formas enzimaticamente ativas, como tripsina, quimotripsina, elastase, carboxipeptidases, entre outros (Lehninger et al., 1995). Além da ação das enzimas pancreáticas, a digesta sofre hidrólise final pelas enzimas da borda em escova.

Cães medindo 0,75 m de comprimento apresentam intestino com, aproximadamente, 4,5 m de comprimento, sendo 3,9 m de intestino delgado (54 cm<sup>2</sup> de jejuno e 38 cm<sup>2</sup> de íleo) e 0,6 m de intestino grosso. Cães com peso corporal de 20 kg absorvem, aproximadamente, 3 L de fluído diariamente. Deste volume, 50% é absorvido pelo jejuno, 40% pelo íleo e 10% pelo intestino grosso (NRC, 2006).

O intestino grosso dos cães compreende o ceco, cólon, reto e anus. É responsável pela reabsorção de água e eletrólitos do quimo proveniente do intestino delgado e atua como ambiente para fermentação microbiana dos nutrientes não absorvidos da dieta. O cólon corresponde a maior fração do intestino grosso e é constituído pelo cólon ascendente, transversal e descendente (Simpson, 1998).

A reabsorção de água e eletrólitos ocorre primariamente no cólon ascendente e transversal associado com contrações segmentadas e movimentos peristálticos retrógrados. Após adequada reabsorção, os resíduos fecais são movidos por peristaltismo até o reto, onde o bolo fecal será armazenado antes da defecação. O tempo de residência das fezes no intestino de cães é de aproximadamente 12 horas (Simpson, 1998).

Em média 8% da digestão da dieta ocorre no intestino grosso dos cães, dependendo da composição do alimento ingerido, como reportado por Meyer & Schunemann (1989). Os autores avaliaram 25 dietas para cães fistulados no íleo terminal e verificaram que em dietas altamente digestíveis, a digestão no intestino grosso correspondia de 1 a 4% da digestibilidade total, enquanto dietas contendo legumes (como batata crua) e lactato, a digestibilidade no intestino grosso correspondia de 12 a 24% do total. Isto se deve ao fato da chegada de compostos não digestíveis pelas enzimas do trato digestório superior do organismo no intestino

grosso, como as fibras, as quais são fermentadas pela microbiota do cólon, principalmente.

De acordo com Strombeck & Guilford (1991) a cavidade oral é considerada a maior fonte de bactérias colonizadoras do SGI. O número de bactérias na boca é de 107 unidades formadoras de colônia por grama (UFC.g<sup>-1</sup>) de secreções residuais. Já o estômago é praticamente livre de bactérias, possuindo apenas de 10<sup>1</sup> a 10<sup>2</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de secreções residuais, sendo que estes números aumentam após as refeições e abaixam significativamente após a secreção de ácido clorídrico.

O intestino delgado dos cães apresenta microbiota relativamente simples. O número de UFC.mL<sup>-1</sup> de fluido intestinal raramente excede 10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, com exceção do íleo distal, o qual apresenta, aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. No duodeno e jejuno são encontrados principalmente *Streptococcus* spp. e *Lactobacillus* spp.. No íleo predominam *Escherichia coli* e bactérias anaeróbias (NRC, 2006).

Cães alimentados com dieta à base de milho e farinha de vísceras de aves apresentam no íleo (log UFC.g<sup>-1</sup> matéria seca), aproximadamente: 4,8 *Clostridium perfringens*, 9,4 *Lactobacillus* spp., 10,4 *Bifidobacterium* spp., 10,5 anaeróbios tolerantes ao oxigênio; 6,3 *Escherichia coli* e 6,7 coliformes totais (Strickling et al., 2000). Ao contrário do intestino delgado, o intestino grosso contém complexo ecossistema microbiológico, variando entre 10<sup>10</sup> a 10<sup>11</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> no cólon, as quais são principalmente anaeróbias (*Bacterioides* spp., *Eubacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Propionobacterium* spp. e *Clostridium* spp.) (Buddington, 1996).

A composição da microbiota intestinal pode ser alterada pelos ingredientes da dieta, como relatado por Amtsberg et al. (1980), os quais verificaram que dietas contendo maior nível de proteína resultaram em maior concentração de *Clostridium perfringens* nas fezes dos cães. Muitos alimentos comerciais para cães contêm altos níveis protéicos, podendo acarretar no aumento de aminoácidos indigeridos no cólon, os quais são substratos ao desenvolvimento da microbiota indesejável. Por outro lado, cães alimentados com dietas com fibras fermentáveis apresentam maior concentração de *Lactobacillus* spp. e redução na população de microrganismos patogênicos, como o *Clostridium* spp. (Hidaka et al., 1990; Swanson et al., 2002).

Durante a fermentação microbiana de compostos nitrogenados endógenos e/ou não-digeridos, substâncias putrefativas são formadas, sendo responsáveis pelo mau odor das fezes. Estas substâncias incluem: amônia, aminas alifáticas (agmatina,

cadaverina, putrescina e tiramina), ácidos graxos ramificados (isobutirato e isovalerato), indóis (indól, 3-metilindol, 2-metilindol e 2,3-metilindol), fenóis (fenól, p-cresol e 4-etilfenol) e compostos sulfurados voláteis (dimetil disulfeto, dietil disulfeto, di-n-propildisulfeto e di-n-butil disulfeto). Estes compostos são produzidos a partir de aminoácidos, por meio de desaminação (ex: amônia), desaminação-descarboxilação (ex: ácidos graxos de cadeia ramificada) ou descarboxilação (ex: aminas alifáticas) (Hussein et al., 1999).

Muitos destes compostos putrefativos exercem efeito adverso à saúde intestinal. A amônia e os fenóis podem promover o desenvolvimento de tumores (Lin & Vissek, 1991) e agravar quadros de colite (Hussein et al., 1999). A proporção relativa dessas substâncias é influenciada pela composição da microbiota colônica, interações metabólicas entre bactérias, nutrientes disponíveis para fermentação, tempo de trânsito intestinal e uma variedade de fatores ligados ao indivíduo, incluindo idade, estado imunológico e composição genética (NRC, 2006).

A microbiota intestinal desempenha importante papel no funcionamento fisiológico normal do intestino, na prevenção da colonização do intestino por microrganismos patogênicos e sobre a fermentação da fibra dietética. A fermentação de fibras pela microbiota intestinal resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), incluindo acetato, propionato e butirato, os quais são prontamente absorvidos pelo epitélio intestinal (Simpson, 1998).

A absorção de AGCC estimula a reabsorção de água e eletrólitos, estando diretamente ligada com a função osmorreguladora do intestino. A absorção de AGCC também aumenta a taxa de absorção de sódio e a combinação da absorção de sódio e AGCC é responsável pela maior parte da água absorvida do lúmen intestinal (Herschel et al., 1981). Além disso, vários estudos com ratos, cães e humanos citam outros benefícios dos AGCC produzidos a partir da fermentação da fibra, como inibição do crescimento de tumores no cólon e reto; indução da diferenciação dos colonócitos e enterócitos; recuperação do epitélio intestinal após injúria (Hague et al., 1997); proteção contra colonização por microrganismos patogênicos (Hidaka et al., 1990); aumento do fluxo sanguíneo na mucosa intestinal, produção de mucina e redução da severidade de colite (Scheppach et al., 1996).

A presença de AGCC estimula a secreção do *glucagon like-peptide 2*, o qual estimula a diferenciação e proliferação celular e a expressão de determinados genes ligados ao transporte de nutrientes no íleo, portanto, pode melhorar a função

digestiva. Além disso, o crescimento da mucosa também melhora sua função de barreira, diminuindo a translocação de microrganismos (NRC, 2006).

### *2.2.1. Efeito da idade sobre a fisiologia digestiva*

Modificações morfofisiológicas e microbiológicas no SGI ocorrem à medida que os animais envelhecem (Fahey et al., 2008). Essas mudanças estão intimamente ligadas à absorção e utilização dos nutrientes (Weber et al., 2002), porém tal fato parece ser afetado minimamente pelo crescimento dos cães (Harper & Turner, 2000).

O processo de envelhecimento varia quanto ao tamanho da raça, genética, nutrição, ambiente no qual o animal é mantido, entre outros fatores (Laflamme, 2005). Segundo Meyer et al. (1940), com o avanço da idade há diminuição da atividade da amilase, tripsina e lipase no suco duodenal, porém Taylor et al. (1995) acreditam que isso não afeta a digestão e absorção, devido à capacidade de reserva do SGI dos mamíferos. Ou seja, o tempo de retenção do alimento no SGI compensa a baixa atividade enzimática nos animais mais velhos.

O comprimento e o peso do intestino, assim como da mucosa, aumentam com a idade dos cães. O SGI de cães Beagles cresce 7 cm, aproximadamente, no primeiro dia de vida (80,1 cm no dia 0 à 87,7 cm no dia 1), alcançando o comprimento de 283,1 cm quando adulto (Paulsen et al., 2003). O peso do intestino, em comparação, aumenta apenas 3 g, aproximadamente, no primeiro dia de vida (11,0 g no dia 0 à 14,1 g no dia 1), pesando 263,4 g no cão adulto (Paulsen et al., 2003). Apesar do aumento no comprimento e peso do intestino, a altura dos vilos diminui com a idade (874  $\mu$ m no jejuno e 737  $\mu$ m no íleo no dia 0 à 810  $\mu$ m no jejuno e 531  $\mu$ m no íleo no dia 42), continuando a reduzir a altura com a idade adulta (700  $\mu$ m no jejuno e 490  $\mu$ m no íleo) (Paulsen et al., 2003). A cripta é pouco profunda ao nascimento (150  $\mu$ m no jejuno e íleo), mas aumenta a partir do dia 21 (350  $\mu$ m no jejuno e 292  $\mu$ m no íleo) até a idade adulta (1100  $\mu$ m no jejuno e 611  $\mu$ m no íleo) (Paulsen et al., 2003).

Avaliando o efeito de dietas com fontes protéicas vegetais e animais em cães jovens (1,2 anos) e idosos (12,1 anos), Kuzmuk et al. (2005) relataram que a altura das vilosidades do jejuno aumentaram nos cães jovens alimentados com a dieta com fonte protéica vegetal (825  $\mu$ m), em relação aos animais jovens alimentados com a



dieta com fonte protéica animal (639  $\mu\text{m}$ ) e os idosos alimentados com ambas as dietas (649  $\mu\text{m}$  e 626  $\mu\text{m}$ , respectivamente).

A capacidade absorptiva (expressa em unidade de peso metabólico) do intestino é máxima ao nascimento. Entretanto, a produção e a atividade enzimática aumentam com a idade. Filhotes de cães de um dia de idade não apresentam atividade da pepsina no estômago, sendo que cães de 63 dias de idade ainda secretam menor quantidade de pepsina (475 U/g de conteúdo gástrico), que cães adultos (2208 U/g). Apesar disso, o pH do suco gástrico de cães filhotes com 1 dia de idade (3,0) é próximo ao de adultos (2,5). Do mesmo modo, a atividade das proteases pancreáticas, tripsina (19.500 U/g tecido pancreático à 40.000 U/g) e quimotripsina (200 U/g à 525 U/g) também aumentam com a idade, comparando animais de 21 dias à animais adultos, respectivamente (Buddington et al., 2003).

Embora haja amadurecimento morfofisiológico do SGI dos cães com a idade, os resultados encontrados na literatura sobre a digestibilidade dos nutrientes por cães de diferentes faixas etárias são controversos (Taylor et al., 1995; Weber et al., 2003; Swanson et al., 2004). Provavelmente isso ocorra devido às diferentes raças avaliadas, as quais apresentam variações nas taxas de crescimento, como por exemplo, raças gigantes apresentam menor taxa de crescimento que raças pequenas, demorando mais tempo para atingir a idade adulta. Além disso, as variações referentes às faixas etárias comparadas, composição das dietas e saúde dos animais também podem influenciar os resultados obtidos.

Estudo desenvolvido por Weber et al. (2003) demonstrou que cães da raça poodle miniatura de 11 semanas de idade apresentam menor coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) (78,2% e 74,5%, respectivamente), que cães da raça Dogue Alemão (84,0% e 80,8%, respectivamente) da mesma idade. Sendo que os animais mais velhos (60 semanas de idade) apresentaram maiores CDA da MS e PB (82,0% e 81,5%, respectivamente, para o poodle miniatura e 85,4% e 84,8%, respectivamente, para o Dogue Alemão), que os mais jovens. Por outro lado, Buffington et al. (1989) não encontraram diferença na digestibilidade da dieta em cães da raça Beagle de diferentes idades (3 à 17 anos).

Ao aferir a digestibilidade de uma dieta contendo farelo de soja como principal fonte protéica em cães em crescimento (5 meses de idade, aproximadamente) e adultos (11 anos de idade), Swanson et al. (2004) não verificaram diferença no CDA

da PB entre as idades avaliadas. Em contrapartida, os autores relataram menor CDA da MS e extrato etéreo (EE) em cães filhotes.

Resultados conflitantes sobre a digestibilidade dos lipídeos em animais de diferentes idades são encontrados na literatura, sendo que Taylor et al. (1995) não relatam diferença na digestibilidade da gordura em cães de diferentes idades, mas citam decréscimo no aproveitamento dos lipídeos da dieta em gatos idosos. Do mesmo modo, Peachey et al. (1999) também relatam redução na digestibilidade do EE em gatos idosos (11,6 anos), em relação aos jovens (3,0 anos).

Segundo Burkholder (1999) há redução na produção de enzimas pancreáticas e decréscimo na secreção e composição dos sais biliares com o aumento da idade dos animais. Ainda, Handler et al. (1994) observaram redução em 50% na secreção de sais biliares em ratos idosos, quando comparado aos jovens.

Em relação às características das fezes, Swanson et al. (2004) relataram que cães filhotes apresentam menor teor de MS e pH nas fezes, em relação aos animais idosos. Essas características das fezes dos filhotes podem ser explicadas pelo maior volume de alimento ingerido/kg peso corporal<sup>0,75</sup>, maior taxa de passagem da digesta (Weber et al., 2003) e pelas alterações na microbiota intestinal durante a fase de crescimento do animal (Buddington et al., 2003).

Comparado com cães adultos, filhotes de 1 dia de idade apresentam maior quantidade de bactérias no estômago (7,5 vs. 7,0 log UFC/g digesta), no lúmen do intestino delgado (8,7 vs 8,0 log UFC/g digesta) e no lúmen do cólon proximal (10,0 vs 9,5 log UFC/g digesta), enquanto no lumen do cólon distal as quantidades de microrganismos são semelhantes entre as idades (Buddington, 2003).

Embora o NRC (2006) comente o possível efeito da idade sobre a produção de amônia no intestino, não foram encontrados trabalhos que avaliassem o teor de amônia nas fezes de cães de diferentes idades. No entanto, é possível que cães filhotes apresentem maior produção de amônia no intestino, em função da maior quantidade de *Clostridium* spp. no cólon desses animais, em relação aos adultos (6,5 log UFC/g vs. 5,0 log UFC/g) (Buddington, 2003). Além disso, os autores relatam aumento nos *Lactobacillus* spp. com a idade dos cães (5,0 log UFC/g em filhotes para 6,0 UFC/g em adultos), os quais auxiliam na inibição do desenvolvimento de *Clostridium* spp.

### 2.3 Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães

Os cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) pertencerem à ordem Carnívora e a superfamília Canoidea. Além da família Canidae (cães, lobos, raposas), a superfamília Canoidea engloba outras famílias com hábitos alimentares distintos, como as famílias Mustelidae (doninhas), que também são carnívoras; Ursidae (ursos) e Procyonidae (quatis), os quais são onívoros e a família Ailuridae (pandas), com hábitos alimentares herbívoros. Desse modo, a história evolutiva do cão é caracterizada por predileção por dietas onívoras (Félix et al., 2010).

Os canídeos são animais gregários, que caçam em grupos e apresentam principalmente hábitos diurnos. Apesar de caçarem na natureza, a maioria dos canídeos apresenta hábito predatório menos efetivo que os felinos. Quando o alimento está disponível sem restrição, ingerem grandes porções em quantidades heterogêneas, de uma a quatro vezes ao dia. (NRC, 2006).

Os principais constituintes nutricionais de sua dieta, na natureza, são proteínas e lipídeos, os quais são obtidos por meio da carne de presas de pequeno (coelhos) à grande (servos) porte. Entretanto, esses animais também apresentam certo consumo de carboidratos não estruturais e fibras, já que ingerem o conteúdo do sistema gastrointestinal das presas abatidas e consomem frutas e algumas partes de plantas. Desse modo, os cães podem ser classificados como animais carnívoros não estritos, uma vez que apesar das proteínas e lipídeos ainda serem fisiologicamente as frações nutricionais mais importantes para seu organismo, os carboidratos são a fração nutricional mais ingerida pela maioria dos cães domésticos (Félix et al., 2010).

Segundo Brown (2009) o maior número de molares e pré-molares nos cães, em relação aos gatos, também permite alimentação mais diferenciada pela espécie, sendo essa característica comum em animais onívoros e herbívoros. As necessidades nutricionais dos cães também são mais próximas à de animais onívoros, que carnívoros. Como por exemplo, a menor necessidade de proteína, em relação aos gatos, sendo 7,0% vs. 14,0%, respectivamente, segundo o NRC (2006) ou 18% vs. 26%, respectivamente, de acordo com a AAFCO (2004) (ambos para animais em manutenção). Além disso, os cães, ao contrário dos gatos, sintetizam vitamina A a partir do  $\beta$ -caroteno; ácido araquidônico a partir do ácido linoléico e taurina a partir de aminoácidos sulfurados, características estas também inerentes à hábitos alimentares onívoros (Brown, 2009).

O controle da ingestão quantitativa e qualitativa voluntária de alimentos por cães é influenciado por diversos fatores inerentes ou não aos animais (Tabela 1). Como fatores intrínsecos cabe citar os anatomo-fisiológicas do organismo, como presença de alimentos no sistema digestório e nível de nutrientes circulantes no sangue e as características e experiências individuais dos animais. Já, os fatores extrínsecos estão relacionados principalmente com as características do alimento, como: textura, *flavor*, forma, tamanho, umidade, temperatura, etc (Case et al., 1998).

O conjunto de fatores, bem como suas interações, inerentes ao animal, alimento e ambiente que promovem ou inibem o consumo em cães é o que define a palatabilidade de um alimento. Entretanto, em virtude da complexidade dessas interações, considerando apenas as propriedades do alimento, pode se definir palatabilidade como o conjunto de características físico-químicas dos alimentos, como sabor, textura, odor e *flavor*, que causam sensação fisiológica agradável, sendo o alimento reconhecido como saboroso e prazeroso de ser consumido (Félix et al., 2010).

Tabela 1. Fatores que influenciam o consumo voluntário de alimentos por cães

Fatores inerentes ao animal	Fatores externos
Experiências e características individuais	Horário, tratador
Grau de fome e/ou apetite	Disponibilidade de alimento
Respostas fisiológicas ao <i>flavor</i> do alimento	Composição e textura do alimento
Presença de alimento no trato digestório	Palatabilidade do alimento
Alteração nas concentrações plasmáticas de nutrientes, hormônios e neurotransmissores	Fatores ambientais: temperatura, presença de outros animais, etc.

Adaptado de Case et al. (1998)

Além dos fatores químicos e físicos que regulam o consumo de alimentos, a percepção do odor, sabor e textura dos alimentos interfere sobremaneira no grau de consumo voluntário, uma vez que os animais terão maior predisposição a ingerir dietas mais palatáveis. Segundo Borges & Gonçalves (1997) os receptores localizados ao longo do sistema digestório, que enviam as informações sobre a palatabilidade do alimento ao Sistema Nervoso Central são: receptores no palato inferior e superior (sistema trigemial), que controlam a apreensão e deglutição; circuito neural gustativo, constituído por bulbos gustativos localizados no epitélio dos

palatos superior e inferior e na porção mandibular da língua e a interação hipotálamo e núcleo dorsal motor do vago, os quais ativam o sistema nervoso parassimpático na preparação do organismo para a digestão.

Em cães o principal sentido é o olfato, seguido pelo paladar e por último a sensação do alimento na boca (tato). Desse modo, a percepção da palatabilidade do alimento ocorre a partir da interação entre três mecanismos sensoriais: olfato (odor), paladar (sabor) e tato (textura), não havendo estudos comprobatórios sobre efeitos expressivos da visão e audição na escolha dos alimentos por cães (Félix et al., 2010).

### 2.3.1 Olfato

O olfato é o principal sentido dos cães de percepção ambiental e de reconhecimento de alimentos e outros indivíduos por meio de sinais químicos (odores). Além disso, o olfato, concomitantemente ao paladar, são fundamentais na percepção do *flavor* dos alimentos. Como o cão doméstico é uma das espécies mamíferas que mais apresenta variações anatômicas entre os indivíduos, a acuidade olfativa pode variar conforme a raça do cão. Fatores como superfície da mucosa olfativa, número de células olfativas e anatomia facial influenciam na percepção de odor. Cães da raça Beagle apresentam aproximadamente 75 cm<sup>2</sup> de epitélio olfativo, com variação entre 18 a 150 cm<sup>2</sup> e 67 a 200 milhões de células olfativas (Dodd & Squirrel, 1980).

O sentido olfativo é composto por receptores moleculares e é o responsável pela maior parte da percepção do *flavor* dos alimentos. De acordo com Rickert (1995) a percepção de diferentes odores se dá devido à presença de receptores específicos no tecido olfativo para cada classe de odor. Segundo o autor, neurônios receptores presentes no tecido olfativo transmitem os sinais gerados pela presença das moléculas de odor na superfície da membrana celular para partes apropriadas da célula olfativa. Em resposta há a geração de padrões vibratórios específicos no epitélio olfativo, os quais são enviados ao cérebro, ocorrendo à percepção do odor.

De acordo com Frémont (2007), mais de 250 compostos químicos possivelmente correlacionados ao aroma são encontrados em palatilizantes para cães a base de fígado de aves, suínos, bovinos, peixe, coelho e cordeiro, sendo os aldeídos e hidrocarbonetos as classes químicas predominantes. Também são detectados grupos aromáticos, como compostos sulfurados e pirazina.

Apesar da sua importância, o olfato está mais ligado à localização dos alimentos do que ao seu consumo. Cães podem ser atraídos por alimentos que emanem odor de carne, por exemplo, mas se ao provarem, o sabor não corresponder ao odor, os animais não manterão a preferência por aquele alimento. Houpt et al. (1978) demonstraram que cães anosmicos (ausência de olfato) por sulfato de zinco apresentaram reduzida capacidade de distinguir entre diferentes tipos de carne, enquanto a preferência por açúcar não foi alterada.

### 2.3.2 Paladar

Apesar do olfato ser considerado o principal responsável pela detecção e seleção dos alimentos, o paladar é o sentido mais estudado para identificar as preferências de cães por determinadas substâncias. Além do mais, o restrito número de estudos avaliando o olfato de cães investigaram a capacidade olfativa e discriminatória e não a função do olfato na seleção e preferência dos alimentos.

Cães apresentam menor percepção gustativa que os seres humanos, com aproximadamente 1.700 papilas gustativas, enquanto os humanos tem em torno de 9.000 (Levesque, 1997). A percepção do sabor inicia com o contato do alimento com a língua, por meio da apreensão e deglutição dos alimentos (cães praticamente não mastigam a refeição). As moléculas de *flavor* do bolo alimentar se espalham junto à saliva pela língua e entram em contato com células receptoras específicas localizadas nas papilas gustativas (principalmente papilas fungiformes e circunvaladas) da língua, gerando sinais químicos que são transmitidos à células nervosas específicas localizadas nos botões gustativos. Os sinais químicos captados pelas células nervosas geram corrente elétrica que causa despolarização da membrana celular. Este impulso elétrico é então transmitido ao cérebro, onde é reconhecido como amargo, azedo, doce, ácido ou umami (Félix et al., 2010).

Os nervos craniais envolvidos na transmissão de informações referentes ao sabor são: nervo facial, glossofaringeal, vago e trigeminal. Dentre estes, o nervo facial é o mais estudado em cães e apresenta sistemas de percepção de sabor constituídos por grupos de neurônios, como das unidades sensíveis aos aminoácidos, ácidos, nucleotídeos, furaneol e amargo (Bradshaw, 1991), como resumido na Tabela 2.

Tabela 2. Principais sistemas neurais receptores de sabor em cães.

Grupo neural	Unidades receptoras	Percepção humana
Aminoácido	M (Tipo A)	Doce ou amargo
Ácido	M (Tipo B)	Azedo
Nucleotídeo	m (Tipo C)	Umami
Furaneol	m (Tipo D)	Doce
Amargo	-	Amargo
Sal	-	Salgado

M: grupo em maioria, m: grupo em minoria, -: não detectado

Adaptado de Boudreau et al. (1985), Boudreau (1989) e Bradshaw (1991)

Por ser principalmente carnívoro e, portanto, apresentar maior necessidade de distinguir entre diferentes tipos de carne, em cães predominam as unidades sensíveis aos aminoácidos (Tipo A), sendo mais sensíveis ao grupo de aminoácidos caracterizados como “doces” por humanos, incluindo L-prolina, L-cisteína, L-ornitina, L-lisina, L-histidina e L-alanina (Bradshaw, 1991).

No cão, ampla quantidade de mono e dissacarídeos e alguns adoçantes artificiais ativam os receptores Tipo A, principalmente D-frutose,  $\beta$ -D-frutose e sacarose, apesar dessas substâncias serem percebidas em menor intensidade que os aminoácidos (Boudreau et al., 1985). As unidades neurais de furaneol (Tipo D), presentes principalmente no nervo glossofaríngeo, respondem a amplo espectro de substâncias com sabor adocicado, particularmente furaneol e metil maltol (Boudreau, 1989), sendo essa característica provavelmente inerente ao hábito dos canídeos de se alimentarem de frutas.

### 2.3.3 Tato

O contato do alimento com a cavidade bucal, principalmente com a língua, também interfere na aceitação dos alimentos. Desse modo, o tamanho de partículas dos ingredientes, forma, densidade, dureza, umidade e tamanho dos extrusados são características que também influenciam na palatabilidade dos alimentos em cães.

Alimentos bem extrusados, apresentam elevado grau de gelatinização do amido e, por conseguinte, extrusados menos densos, mais macios e crocantes e maior homogeneidade no recobrimento com gordura e palatilizante. O tamanho de partículas dos ingredientes deve ficar entre 0,6-1,0 mm, para maior aceitação pelos

cães. O formato do extrusado é especialmente importante para cães braquicefálicos, como Boxers e Buldogues, que apresentam dificuldade de apreensão e deglutição, devendo optar por formatos mais achatados e com bordas arredondadas (extrusão longitudinal), visando facilitar a ingestão por essas raças (Félix et al., 2010).

#### *2.3.4 Preferências alimentares de cães*

Cães são sensíveis à qualidade dos ingredientes utilizados. Dietas secas extrusadas ricas em fibras e macro minerais e pobres em lipídeos e proteínas são as menos aceitas. O uso de ingredientes contaminados por fungos, contendo micotoxinas e o uso de ingredientes contendo gordura oxidada, também podem deprimir o consumo sensivelmente (Félix et al., 2010).

As principais preferências de sabores de cães são por carne (Kitchell, 1972; Lohse, 1974; Houpt et al., 1978) e açúcar (Houpt et al., 1978; Houpt & Smith, 1981; Bradshaw, 1991), preferindo carne a uma dieta com alto teor protéico contendo milho e farelo de soja (Houpt et al., 1978). Também preferem dieta contendo açúcar, assim como água contendo açúcar à água pura (Houpt & Smith, 1981). Apesar da preferência por sacarose, Houpt & Smith (1981) citam que cães preferem água pura em detrimento de água contendo sacarina, demonstrando que cães podem ser mais sensíveis que os humanos quanto à diferenciação entre o sabor da sacarose e sacarina (sabor amargo).

De acordo com Houpt & Smith (1981) a hierarquia de preferência pelas diferentes carnes em cães é: carne bovina > suína > frango > cordeiro > cavalo. Sendo que um dos fatores mais influentes em relação à preferência por determinada carne é a quantidade de gordura desta, já que cães preferem carne de boi magra à carne suína magra, entretanto, se ofertada carne de boi magra e carne suína gorda, os animais preferem a carne suína (Houpt et al., 1978).

Cães, de modo geral, preferem alimentos úmidos ou semi-úmidos à alimentos secos, não demonstrando preferência entre os alimentos úmidos ou semi-úmidos (Kitchell, 1972). A umidade final dos extrusados melhora a textura (extrusados mais macios) e promove maior volatilização de alguns *flavores* dos alimentos. Cães preferem alimentos mornos aos frios. Preferem carne cozida à crua e apresentam leve preferência por carne moída em relação à carne em pedaços (Lohse, 1974).



## 2.4 Fontes protéicas

Como descrito anteriormente, o cão pode ser classificado como um animal carnívoro não estrito. Pois embora apresente menor necessidade protéica e hábitos alimentares mais flexíveis que os gatos, as proteínas e lipídeos ainda constituem sua base nutricional.

As proteínas são compostas por polímeros de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas. Com exceção da prolina, todos os aminoácidos presentes nas proteínas são  $\alpha$ -aminoácidos e apresentam grupamentos  $\alpha$ -amino e  $\alpha$ -carboxílicos, ambos envolvidos nas ligações peptídicas. Apresentam também, uma cadeia lateral ligada ao carbono  $\alpha$ , que varia quanto ao tamanho e composição química, caracterizando os diferentes aminoácidos e contribuindo para a formação das estruturas secundária, terciária e quaternária das proteínas. A sequência desses aminoácidos confere as proteínas atividades metabólicas específicas, como a formação de tecidos, enzimas, hormônios, dentre outros (Lehninger, 1995).

As proteínas compõem, aproximadamente, 18% do peso corporal de cães adultos. Do ponto de vista nutricional, o que distingue uma proteína da outra é o seu perfil de aminoácidos, sendo 10 destes considerados dieteticamente essenciais aos cães (NRC, 2006) (Tabela 3).

Tabela 3. Recomendação diária de proteína bruta (PB) e aminoácidos essenciais para cães (g/kg peso corporal<sup>0,75</sup>).

Estádio	PB	Arg	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val
Manutenção	3,3	0,11	0,06	0,12	0,22	0,11	0,11	0,15	0,14	0,05	0,16
Crescimento <sup>1</sup>	15,7	0,55	0,27	0,45	0,90	0,61	0,24	0,45	0,56	0,16	0,47
Crescimento <sup>2</sup>	12,2	0,46	0,17	0,35	0,57	0,49	0,18	0,35	0,44	0,13	0,39
Gestação <sup>3</sup>	24,6	1,23	0,54	0,87	2,46	1,11	0,38	1,02	1,28	0,15	1,60

<sup>1</sup>Filhotes de 4 à 14 semanas de idade (5,5kg de peso atual e 35kg de peso à maturidade)

<sup>2</sup>Filhotes após 14 semanas de idade (5,5kg de peso atual e 35kg de peso à maturidade)

<sup>3</sup>Fêmeas em final de gestação até o pico de lactação

Adaptado do NRC (2006)

Os aminoácidos são fornecidos na dieta principalmente por meio de ingredientes protéicos, os quais podem ser de origem vegetal, animal ou por combinação de ambos. Embora as fontes protéicas de origem vegetal forneçam

todos os aminoácidos essenciais para cães, os ingredientes de origem animal apresentam, geralmente, melhor balanceamento destes (Tabela 4). Entretanto, além da composição em aminoácidos, o valor nutricional de uma proteína também depende de sua digestibilidade, devendo isso também ser considerado na formulação de dietas para cães (Sgarbieri, 1996).

Segundo Brown (2009) em dietas secas extrusadas para cães, baseadas em cereais, a lisina é o primeiro aminoácido limitante. Sendo este fato importante principalmente ao se considerar que parte da lisina pode se tornar indisponível ao animal durante a extrusão e secagem do alimento (reação de Maillard).

As principais fontes protéicas utilizadas em alimentos secos e semi-úmidos para cães são as farinhas de co-produtos de origem animal, como a farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de aves, farinha de vísceras de suínos, entre outros e os ingredientes de origem vegetal. Dentre as fontes protéicas vegetais, o farelo e a farinha de soja, concentrado protéico de soja, proteína isolada de soja, grão tostado de soja, soja micronizada e o glúten de milho são os mais utilizados para cães.

Tabela 4. Proteína bruta (PB) e aminoácidos essenciais (expressos em % da matéria seca) de fontes protéicas de origem animal e vegetal.

Fontes	PB	Arg	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val
FCO	57,5	4,06	1,18	1,70	3,63	3,10	0,82	2,05	1,95	0,38	2,55
FVA	62,8	4,14	1,43	2,39	4,47	3,02	1,09	2,17	2,23	0,49	2,94
FS	53,6	3,91	1,48	2,44	4,18	3,37	0,77	2,81	2,12	0,68	2,48
GM	64,7	2,07	1,38	2,66	10,84	1,09	1,53	4,10	2,18	0,34	3,00

FCO: farinha de carne e ossos; FVA: farinha de vísceras de aves; FS: farelo de soja Hipro; GM: glúten de milho.

Adaptado do NRC (2006)

As fontes protéicas de origem vegetal, uma vez associadas às farinhas de origem animal, permitem fornecimento dos níveis de proteínas e aminoácidos desejados, ao mesmo tempo em que moderam os níveis de macrominerais (principalmente cálcio) nas formulações, pois possuem alta relação proteína bruta: matéria mineral (7:1 a 20:1), ao contrário dos co-produtos de origem animal. O excesso de minerais resulta na diminuição da digestibilidade do alimento, interfere na motilidade intestinal, acarretando em ressecamento das fezes e eleva o conteúdo de cálcio, fósforo e magnésio do alimento, dificultando a formulação de dietas

nutricionalmente balanceadas. O excesso de cálcio e fósforo predispõe à desordens ósseas classificadas genericamente como osteomegalias, que decorrem não somente de fatores nutricionais, mas também da relação entre a genética e o meio ambiente (Cowell et al., 2000).

A composição nutricional e a biodisponibilidade dos nutrientes das farinhas de origem animal são mais variáveis, pois são influenciadas, entre outros fatores, pelo nível de inclusão dos diferentes tecidos animais e pela temperatura e tempo de processamento da farinha (Fahey & Hussein, 1998). Já, os ingredientes protéicos de origem vegetal, embora possuam maior constância em seu valor nutricional, podem apresentar fatores antinutritivos.

Os derivados protéicos de soja são as fontes protéicas vegetais mais estudadas para cães (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Yamka et al., 2005; Sá-Fortes, 2005; Cavalari et al., 2006; Yamka et al., 2006; Carciofi et al., 2009). A maior atenção conferida à soja se deve ao seu alto teor protéico, perfil de aminoácidos mais próximos às farinhas animais (Tabela 4), com exceção da metionina e disponibilidade do grão de soja e derivados com baixo efeito sazonal. Em virtude disso, a soja será o ingrediente protéico de maior abordagem no presente estudo.

## **2.5 Soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]**

A soja é uma leguminosa originária da China, onde é conhecida a mais de 5.000 anos. O grão de soja como fonte protéica e energética é considerado como uma das oleaginosas mais ricas e disponíveis mundialmente. A soja é a oleaginosa mais produzida no mundo, sendo os Estados Unidos e o Brasil os maiores produtores. A safra brasileira de soja em 2009 foi de 57,0 milhões de toneladas, com previsão de crescimento de 14,4% em 2010 (IBGE, 2010), sendo o grão mais produzido no Brasil.

Existem diversos produtos da soja no mercado que já são utilizados na formulação de dietas para cães e outros com potencialidade de uso, dentre os quais pode-se citar o farelo de soja, soja micronizada, concentrado protéico de soja, proteína isolada de soja e a soja grão tostada (Saad et al., 2005).

O grão de soja é composto por 8% de casca, 90% de cotilédone e 2% de gérmen e quando descascado apresenta cerca de 40% de proteína, 20% de lipídios,

35% de carboidratos e 5% de minerais. Os lipídios e grande parte da proteína encontram-se em corpúsculos contidos nas células cotiledonares (USDA, 2009).

As proteínas da soja são insolúveis em água em seu ponto isoelétrico, mas se dissolvem em água ou soluções salinas diluídas em valores de pH acima ou abaixo do seu ponto isoelétrico (pH de 4-5) (Sgarbieri, 1996). Estas são classificadas principalmente como globulinas, com pesos moleculares variando de 8.000 Da a 600.000 Da, com maior concentração na faixa de 110.000 Da a 350.000 Da. A separação das proteínas por ultracentrifugação apresenta frações cujos coeficientes de sedimentação (S, unidades Svedberg, a 20°C em água) são: 2S, 7S, 11S e 15S. As frações 11S e 15S são constituídas de proteínas puras (Cheftel & Lorient, 1989; Liu, 1997). A fração 2S, que representa cerca de 20% das proteínas, é composta por proteínas biologicamente ativas, inibidores de tripsina e globulinas. As frações 7S e 11S representam juntas cerca de 70% das proteínas contidas no grão de soja. A fração 7S é composta pelas enzimas  $\beta$ -amilase e lipoxigenase, lectina e citocromo C e pela globulina de reserva  $\beta$ -conglucina (corresponde à 91% da fração 7S). A globulina de reserva 11S, glicina, constitui cerca de 37% da PB da soja. A fração de globulina 15S perfaz cerca de 10% do total de proteínas (Sgarbieri, 1996; Cheftel & Lorient, 1989).

A  $\beta$ -conglucina, glicoproteína trimérica com peso molecular médio de 180 kDa é constituída de três subunidades:  $\alpha'$  (57-83 kDa),  $\alpha$  (57-76 kDa) e  $\beta$  (42-53 kDa), que interagem para formar cerca de 6 isômeros conhecidos (designados como B1 a B6). Outra subunidade  $\beta'$  já foi observada em algumas variedades de soja. As subunidades  $\alpha$ ,  $\alpha'$  e  $\beta$  são ricas em asparagina, glutamina, leucina e arginina. As subunidades  $\alpha$  e  $\alpha'$ , similares na composição de aminoácidos, são ricas em cisteína e pobres em metionina. A subunidade  $\beta$ , glicoproteína formada por polipeptídios, contém 4-5% de carboidratos e não apresenta metionina (Liu, 1997).

A fração 11S (glicina), de estrutura hexamérica, tem peso molecular de 360 kDa. As subunidades monoméricas apresentam estrutura A-S-S-B, na qual A representa polipeptídeo ácido de 33-44 kDa, B polipeptídeo básico de cerca de 20 kDa e S-S corresponde às pontes dissulfídicas que unem os polipeptídeos, formando a subunidade AB. Sua estrutura quaternária é ainda estabilizada por interações eletrostáticas e hidrofóbicas. Em geral, a fração 11S contém até quatro vezes mais metionina e cisteína por unidade de PB do que a 7S (Liu, 1997).

Assim, a fração 11S torna-se valiosa sob o ponto de vista nutricional, visto que a soja é deficiente em aminoácidos sulfurados. Entretanto, em virtude do alto peso molecular das proteínas de reserva, estas podem gerar resposta alérgica, com liberação de histamina no SGI, resultando em irritação e diarreia em animais sensíveis.

#### *2.5.1 Fatores antiqualitativos da soja*

A soja integral apresenta fatores antiqualitativos termolábeis e termorresistentes. Segundo Liener (1981) os principais fatores termolábeis são os inibidores de proteases, hemaglutininas (lectina) e lipoxigenases. Já, os principais fatores termorresistentes são: oligossacarídeos, polissacarídeos não-amiláceos (PNA), lisinoalaninas (formada por ligações de resíduos de lisina com cistina ou serina em meio alcalino), fatores alergênicos (glicinina e  $\beta$ -conglucina) e fitato.

A lectina é uma glicoproteína que interage com as glicoproteínas presentes nas membranas celulares dos glóbulos vermelhos aglutinando-os. Segundo Saad et al. (2005) o principal efeito das lectinas se deve a capacidade destas em se ligar à mucosa intestinal. Essa ligação resulta em ruptura do epitélio intestinal, com diminuição da altura das vilosidades, alteração na atividade das enzimas da borda em escova e hipersecreção de proteína endógena, induzindo a hiperplasia do intestino delgado, com aumento do número de células caliciformes produtoras de muco, causando decréscimo na absorção dos nutrientes. A soja crua contém aproximadamente 3600  $\mu\text{g}$  de lectina/g (1 à 3% das proteínas do farelo de soja), entretanto, esta é facilmente destruída por tratamento térmico mais brando que o necessário para desnaturação dos inibidores de proteases (Barca et al., 1991).

As lipoxigenases são enzimas importantes na tecnologia da soja por oxidar rapidamente ácidos graxos poliinsaturados, gerando peróxidos de ácidos graxos que se degradam em aldeídos e cetonas voláteis. Estes se ligam às proteínas e a outros componentes do grão, dando origem ao sabor desagradável da soja. Sua inativação térmica se dá em temperaturas superiores a 85°C (Sgarbieri, 1996).

O ácido fítico atua formando complexos com minerais, como o fósforo, ferro, zinco, manganês, dentre outros, além de aminoácidos, tornando-os indisponíveis para o animal. O teor de ácido fítico na soja varia entre 1,0 à 2,3%, com maior concentração nos cotilédones (1,6%), seguido pela casca (0,1 à 0,5%) (Anderson & Wolf, 1995). Assim, segundo os mesmos autores, derivados protéicos de soja

apresentam maior concentração de ácido fítico, variando de 1,5 à 2,0% nas farinhas, concentrados e isolados protéicos, não sendo destruídos durante o tratamento térmico. Embora o ácido fítico possa reduzir a disponibilidade de aminoácidos ao organismo, Yamka et al. (2005) não relataram diferença na digestibilidade do nitrogênio em cães alimentados com dietas contendo farelo de soja convencional ou com baixo teor de fitato.

Em função dos inibidores de proteases e os carboidratos indigestíveis, serem os principais fatores antiqualitativos da soja para cães, estes serão descritos em maior detalhe a seguir.

#### *2.5.1.1 Inibidores de proteases*

Os principais inibidores de proteases presentes na soja integral são os fatores Kunitz, que inibe a tripsina e o fator Bowman-Birk, o qual inibe a tripsina e a quimotripsina. O fator Kunitz apresenta alto peso molecular (aproximadamente 20.000 Da) e contém duas pontes dissulfeto e 181 resíduos de aminoácidos. Já, o fator Bowman-Birk apresenta peso molecular entre 6.000 à 10.000 Da, alta proporção de ligações dissulfeto e 71 resíduos de aminoácidos, sendo os sítios ativos de inibição da tripsina e quimotripsina independentes (Liener, 1994).

Os inibidores Kunitz e Bowman-Birk apresentam relação de 60:40, aproximadamente e estão localizados juntamente com as proteínas de reserva nos cotilédones (Liener, 1981). Entretanto, as concentrações desses inibidores podem variar de 1,1 à 19,6 mg/g de fator Kunitz e <0,2 à 4,9 mg/g de fator Bowman-Birk em farinhas de soja (DiPietro & Liener, 1989), com relação Kunitz: Bowman-Birk de 0,5:1 à 8,1:1 (Anderson & Wolf, 1995).

Ao avaliar 108 variedades e cultivares de soja, Kakade et al. (1973) relataram que o grão contém 35 à 123 mg de inibidores de tripsina/g de proteína. Estes inibidores atuam como defesas biológicas contra predadores da planta e representam em torno de 10% da proteína da soja.

A complexação destes fatores antiqualitativos com as enzimas pancreáticas tripsina e quimotripsina diminuem a digestibilidade da proteína dietética. Por inibição retroativa, o pâncreas é estimulado pela colecistoquinina a aumentar a produção e secreção enzimática para compensar a falta de tripsina e quimotripsina ativas e a presença de substrato indigerido no duodeno. Como consequência, pode haver hiperplasia pancreática, afetando negativamente a digestão dos nutrientes. Devido

ao aumento da síntese protéica das enzimas tripsina e quimotripsina, há maior utilização dos aminoácidos sulfurados, que são à base dessas enzimas, agravando ainda mais a deficiência de metionina (Sgarbieri, 1996).

Segundo Liener (1981) a hiperplasia pancreática causada pelos inibidores de proteases é significativa apenas em espécies nas quais o pâncreas representa mais que 0,3% do peso corporal. Esse fato foi comprovado por Struthers et al. (1983), os quais encontraram aumento do peso do pâncreas em ratos, mas não em leitões e macacos alimentados com soja crua. Os autores ainda relataram redução no consumo de alimentos e digestibilidade do nitrogênio. Em cães também não é relatada hipertrofia e hiperplasia pancreática nos animais consumindo soja crua, havendo indícios que o mecanismo de inibição retroativa não é importante para a espécie (Sales et al., 1977).

Estudo desenvolvido por Kakade et al. (1973) demonstrou que os inibidores de proteases podem responder por 40% da depressão do crescimento em ratos alimentados com soja crua. Enquanto Struthers et al. (1983) relatam depressão no crescimento de 60% em ratos e 84% em leitões alimentados com soja crua. Já, o desempenho não é comprometido quando os animais são alimentados com sojas, contendo inibidor de tripsina máximo de 3,4mg/g, em aves (Batal et al., 2000) e máximo de 2,0mg/g, em suínos (Webster et al., 2003).

#### *2.5.1.1.1 Inativação dos inibidores de proteases*

Segundo Saad et al. (2005), dentre os fatores antinutricionais termolábeis da soja, os inibidores de proteases são os de maior importância, pois apresentam maior termorresistência e, portanto, uma vez inativados, os demais já estarão controlados. O inibidor Bowman-Birk é mais resistente ao tratamento térmico que o Kunitz, devido à estabilidade conferida pelo maior número de ligações dissulfeto.

Estudo desenvolvido por Antunes & Sgarbieri (1980) demonstrou que o inibidor de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris*) é inativado quando este é submetido à 97°C de temperatura durante 7,5 minutos em água. Segundo os autores, a completa inativação dos inibidores de proteases pode ser alcançada em feijões aquecidos à 100°C por 5 à 10 minutos. Portanto, para completa inativação do inibidor Bowman-Birk, a soja deve ser tratada à temperatura superior à 100°C para clivar as pontes dissulfeto entre as moléculas de proteína (Losso, 2008). Assim, geralmente o

tratamento térmico do farelo de soja ocorre à temperaturas médias de 150°C para completa inativação dos inibidores de protease (Webster et al., 2003).

Vários processamentos foram desenvolvidos com o objetivo de inativar os inibidores de proteases da soja, como o microondas, tostagem, extrusão e micronização. Para a definição entre um destes devem ser consideradas as vantagens nutricionais, padronização do produto e os custos do processamento.

O efeito da extrusão sobre a inativação de compostos antiqualitativos da soja grão foi avaliado por Marsman et al. (1995) e Furuichi et al. (1989), citados por Saad et al. (2005). Os autores encontraram inativação dos inibidores de tripsina e lectina na soja extrusada. Do mesmo modo, Purushotham et al. (2007) relataram inativação eficiente (<2,0 mg/g) do inibidor de tripsina ao extrusar uma fórmula de alimento completo para cães contendo 15% de grão de soja cru entre 125-140°C.

Ao submeter o grão de soja cru ao processo de extrusão a úmido sob temperaturas de 118, 120, 122, 126 e 149°C, Perilla et al. (1997) verificaram que a atividade ureásica, atividade inibidora de tripsina e a solubilidade da proteína em KOH 0,2% decresceram linearmente com o aumento da temperatura. Os frangos alimentados com dietas que continham soja extrusada a 118 e 120°C apresentaram menor ganho de peso e hipertrofia pancreática, sendo o melhor desempenho relatado em aves alimentadas com soja extrusada a 122 e 126°C.

O processamento térmico da soja, além de eliminar os fatores termolábeis, provoca a ruptura da parede celular, tornando os nutrientes mais disponíveis ao processo de digestão. Sendo esse fato expressivo principalmente em sojas submetidas ao processo de extrusão, como demonstrado por Dust et al. (2004), os quais relataram redução no teor da fibra dietética solúvel de 10,8% à 8,0% em farinhas de soja submetidas à extrusão branda e moderada, respectivamente.

As vantagens relatadas na literatura em relação à extrusão da soja são: retardamento na rancificação lipídica, em função da destruição das enzimas lipoxidase e lipoxigenase, responsáveis pela rancificação oxidativa e pela liberação de antioxidantes, tais como tocoferóis e fosfolipídios; aumento na digestibilidade da gordura, decorrente do rompimento dos lipossomos, tornando os lipídios mais disponível aos animais e desnaturação das proteínas antigênicas, glicinina e  $\beta$ -conglucina, aumentando a digestibilidade protéica e reduzindo o risco de alergia (Bataglia, 1990; Neto, 1992; Sakomura, 1996).



Nesse sentido, considerando que os alimentos secos para cães são extrusados, é possível que os nutrientes dos derivados de soja da formulação apresentem maior disponibilidade à digestão em cães. Em contrapartida, a extrusão de fórmulas contendo derivados de soja termicamente tratados, como ocorre na prática, pode estar superaquecendo esses ingredientes, por submetê-los a um segundo processo térmico, comprometendo a disponibilidade de seus aminoácidos aos animais, sendo importante que esses fatos sejam melhor investigados.

#### *2.5.1.1.2 Aferição da inativação dos inibidores de protease*

Estudo desenvolvido por Osborne & Mendel em 1917, comprovou que o calor melhora a qualidade nutricional da soja para ratos. Posteriormente, Caskey & Knapp (1947) desenvolveram a análise da atividade ureásica para avaliar a qualidade do processamento térmico aplicado à soja. Os autores realizaram o trabalho baseado na premissa de que o adequado tratamento térmico destruiria a enzima urease, presente na soja e que, portanto, o grão ou derivado que apresentasse valor positivo de urease estaria subprocessado (Mitchell, 1951).

A técnica da atividade ureásica é simples e mede a alteração de pH que ocorre quando uma amostra de grão ou derivado de soja é misturada à uréia. A urease é uma enzima que cataliza a reação de transformação da uréia em gás carbônico e amônia, aumentando o pH do meio. Quanto maior o aumento do pH, maior a atividade da urease, indicando que a soja não foi suficientemente aquecida (Acosta, 1987).

Os níveis de urease, por si, não são relevantes na nutrição de animais não ruminantes. Em contrapartida, a urease pode medir indiretamente a eficiência do tratamento térmico empregado, mostrando a influência do processamento sobre as proteínas e, conseqüentemente, sobre os fatores antidualitativos (Acosta, 1987). A alta correlação entre a atividade ureásica, inibidores de tripsina e ganho de peso foi verificada no trabalho realizado por Dale (1991), indicando que a atividade ureásica como medida indireta da inativação dos fatores antidualitativos é eficiente.

A mensuração da atividade ureásica é uma das análises laboratoriais mais usuais para avaliar a qualidade de derivados de soja na indústria de rações. Entretanto, não há consenso de qual é o nível de urease mais adequado como parâmetro de boa qualidade do processamento térmico da soja. A urease é uma enzima que é destruída em condições térmicas semelhantes aos inibidores de

proteases e lectina, apresentando valor de  $\Delta$  pH próximo a 2,0 para a soja crua (Purushotham et al., 2007).

A indústria de alimentos nos Estados Unidos tem empregado 0,05 à 0,20 de  $\Delta$  pH, como valor máximo aceitável para urease no farelo de soja processado para uso na alimentação animal (Bellaver & Snizek, 1999). Já, a Comunidade Econômica Européia tem aceitado valores de  $\Delta$  pH de até 0,5 (Waldroup et al., 1982). No Brasil, a Associação Nacional dos Fabricantes de Ração (ANFAR, 1985) recomenda valores de atividade ureásica de 0,05 a 0,30 de  $\Delta$  pH para o farelo de soja.

Apesar da determinação da urease ser um método prático e barato, sua resposta não é linear e consistente ao aquecimento da soja e à presença de inibidores de proteases. Além disso, a urease é mais sensível ao calor que os inibidores de proteases, podendo ser inativada antes da completa desnaturação desses inibidores. Desse modo, a análise da atividade inibitória de tripsina é recomendável para obtenção de resultados mais exatos (Purushotham et al., 2007).

Embora as análises da atividade ureásica e inibitória de tripsina sejam empregadas para determinar se os derivados de soja foram subaquecidos, não são eficientes para detectar o superaquecimento destes. Em consequência disso, é necessária a utilização de técnicas analíticas complementares, como a solubilidade da proteína em KOH 0,2% (PSKOH) e o índice de proteína dispersível (IPD).

Estudo desenvolvido por Araba & Dale (1990) demonstrou que a PSKOH é uma medida mais representativa da qualidade do processamento da soja, uma vez que, ao contrário da atividade ureásica, apresenta resposta linear ao tratamento térmico. Desse modo, os autores relatam que, valores de PSKOH acima de 85% e abaixo de 70% indicam, respectivamente, subaquecimento ou superaquecimento do produto, considerando que a soja crua apresenta PSKOH próxima a 100%. Já, a recomendação da ANFAR (1985) é que a solubilidade mínima seja de 80%.

O IPD mede a solubilidade da proteína em água sob agitação rápida. Segundo Balloun (1980) o processamento da soja é adequado quando os valores de IPD se encontram entre 15% à 30%, com valores para soja crua entre 40% à 90% (Lusas & Riaz, 1995). Além disso, Araba & Dale (1990) ainda citam que o IPD apresenta comportamento mais consistente em relação ao tratamento térmico que a PSKOH, sendo uma medida mais representativa do processamento da soja.

### 2.5.1.2 Carboidratos indigestíveis

A estrutura química dos carboidratos da soja é complexa e a exata composição e quantificação de algumas moléculas não são conhecidas. Entretanto, sabe-se que os carboidratos do grão de soja são constituídos principalmente por PNA (20-30%), dos quais, aproximadamente, 8% são celulose e o restante são compostos pécicos, polímeros não celulósicos e açúcares livres (10%), como mono, di e oligossacarídeos, sendo que o amido compõe menos de 1% do grão (Tabela 5).

Tabela 5. Níveis de monômeros e polímeros de carboidratos presentes no grão de soja (% expressa na matéria seca).

Carboidratos	Solúvel	Insolúvel	Total
Amido			1,0
Total de PNA	2,7	16,5	19,2
Estaquiose	5,2	-	5,2
Rafinose	1,4	-	1,4
Sacarose	5,0	-	5,0
Celulose	-	4,4	4,4
Ramnose	0,1	0,2	0,3
Fucose	-	0,3	0,3
Arabinose	0,5	2,4	2,9
Xylose	0,1	1,7	1,8
Manose	0,2	0,7	0,9
Galactose	0,6	3,9	4,5
Glicose	0,2	0,3	0,5
Ácido urônico	1,1	2,5	3,6

Adaptado de Coon et al. (1990), Choct (1997), Bach Knudsen (2001) e Choct et al. (2010).

Os PNA podem ser classificados em três grupos principais, denominados celulose, polissacarídeos pécicos e polímeros não-celulósicos. Dentre estes, os polímeros não-celulósicos e os polissacarídeos pécicos, apresentam a maior importância nutricional. Isso se deve ao fato desses compostos, ao contrário da celulose, possuírem moléculas solúveis em água, apresentando maior interferência

nos processos fisiológicos do sistema gastrointestinal (Choct et al., 2010). Em virtude disso, estes carboidratos serão descritos em maior detalhe a seguir.

#### 2.5.1.2.1 Polissacarídeos pécticos

Na soja, os PNA são compostos principalmente por uma mistura de polissacarídeos pécticos formados a partir de ligações entre o ácido  $\beta(1\rightarrow4)$ -D-galacturônico com a L-ramnose (ramnogalacturonanas I e II), arabinose (arabinogalactana) e xilose (xilogalacturonana), ambos com ligações  $\alpha$ -1,2. Esses compostos pécticos podem compor até um terço do peso seco da parede celular de dicotiledôneas. Os compostos pécticos são encontrados em maior quantidade na lamela média, onde exercem efeito de adesão entre as células e parede celular primária, onde retém água e formam géis. Assim, estes compostos contribuem com as propriedades plásticas da parede das células vegetais, podendo ser extremamente variáveis em sua composição química (Fransen, 1999).

A nomenclatura das pectinas é baseada na escala de metilação e nos graus de esterificação de grupos carboxílicos de cadeias poligalacturônicas. Desse modo, estas podem ser classificadas, segundo Bailoni et al. (2003) como:

- *Pectinas de alta metilação*: possuem porcentagem de esterificação com grupos carboxílicos maior que 50%, formando facilmente géis com água;
- *Pectinas de baixa metilação*: apresentam porcentagem de metilação com grupos carboxílicos menor que 50%, formando géis com água mais facilmente na presença de cátions, como o cálcio, independentemente do pH;
- *Protopectinas*: caracterizam-se por serem insolúveis em água.

Segundo Bailoni et al. (2003) do total da matéria seca das substâncias pécticas encontradas no grão de soja, 23,7% correspondem à pectina altamente metilada; 38,5% à pectina pouco metilada e 37,5% à protopectina.

#### 2.5.1.2.2 Polímeros não-celulósicos

Na soja, os polímeros não-celulósicos são representados, em sua maioria, pelas hemiceluloses e por oligossacarídeos. As hemiceluloses correspondem à cerca de 20% do peso seco da parede celular e são constituídas, basicamente, por cadeias de xilose com ramificações de arabinose, ácido glicurônico e resíduos de ácido 4-O-metil-glicurônico. A maioria dos polissacarídeos, incluindo arabanos, galactanas, mananas, xilanas e ácidos urônicos são encontrados na fração

hemicelulose das plantas. As hemiceluloses solúveis em água são constituídas, principalmente, por arabinoglicoronoxilanas e arabinoxilanas ácidas (Hayashi, 1989; Bach Knudsen, 2001).

Em dicotiledôneas, como a soja, as xiloglicanas são os polissacarídeos predominantes nas paredes celulares primárias. São comumente compostas por resíduos de D-glicose, D-xilose e D-galactose na proporção de 4:3:1. Esses polissacarídeos possuem repetida estrutura de oligossacarídeos característicos, com cadeias  $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glicose estruturais, regularmente ramificada com D-xilose no carbono 6 (C $\alpha$ ) para a maioria dos resíduos de glicose. Parte dos resíduos de xilose podem ser substituídos por dissacarídeos ( $\alpha$ -L-fucose-1,2- $\beta$ -D-galactose) e, algumas vezes, por ligações  $\beta(1\rightarrow4)$  de D-xilose com inúmeros resíduos acetilados ou substituídos com diferentes açúcares nos carbonos 2 e 3 (Hayashi, 1989; Choct et al., 2010).

A hemicelulose também apresenta pentosanas, como os polímeros lineares de arabinoxilanas, formados por unidades de D-xilose unidas com ligações  $\beta(1\rightarrow4)$ , com substituições de arabinose ao longo da cadeia. A presença de arabinose na cadeia é o principal responsável pela característica solúvel e higroscópica das arabinoxilanas, caracterizando sua capacidade em aumentar a viscosidade da digesta em animais não-ruminantes (Bedford, 1993; Bach Knudsen, 2001).

#### 2.5.1.2.2.1 $\beta$ -mananas

As  $\beta$ -mananas da soja fazem parte das hemiceluloses e são cadeias lineares de manose ligadas à unidades de glicose ou galactose. As glicomananas são compostas por unidades de glicose ligadas ( $\beta$ -1,4) em uma cadeia principal linear constituída por manoses ( $\beta$ -1,4) e as galactomananas são formadas por unidades de galactose ( $\alpha$ -1,6) ligadas à um esqueleto de manoses ( $\beta$ -1,4) (Figura 2). Esses compostos estão presentes principalmente no endosperma e na casca do grão de soja (Choct, 1997), em concentrações de 1,2%, no farelo de soja com 48% de proteína bruta à 1,6%, no farelo de soja com 44% de proteína bruta (Hsiao et al., 2006). Apresentam alta capacidade de formação de pontes de hidrogênio, contribuindo ao aumento da viscosidade da digesta.

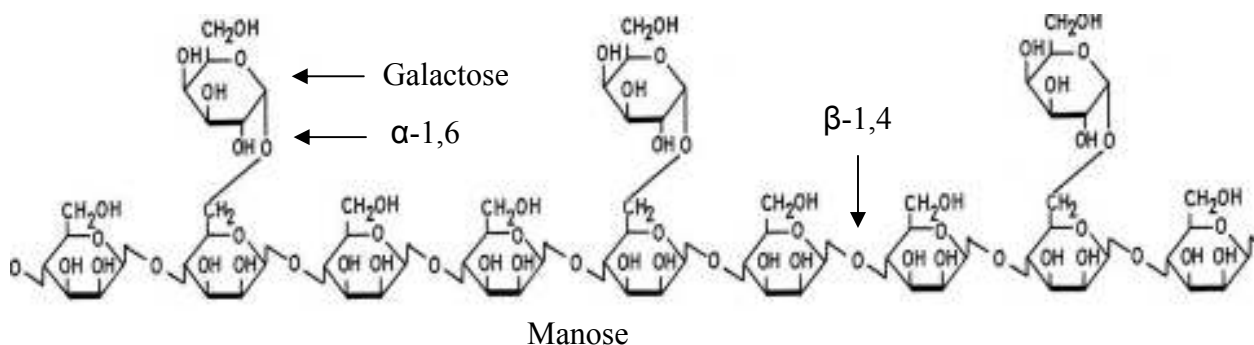


Figura 2. Estrutura da cadeia de galactomanana (Adaptado de Choct et al., 2010).

#### 2.5.1.2.2.2 Oligossacarídeos

Os oligossacarídeos da soja são formados a partir de ligações  $\alpha$ -1,6 galactosídicas entre a sacarose e a galactose, sendo, portanto, também conhecidos como  $\alpha$ -galactosídeos. Os principais açúcares da soja são a sacarose, estaquiose, rafinose e verbascose, os quais representam, aproximadamente, 90% dos oligossacarídeos do grão (Choct et al., 2010) (Figura 3).

Os oligossacarídeos indigestíveis podem ser definidos como carboidratos com grau de polimerização de dois à 20 que são solúveis em etanol a 80% e não são digeridos pelas enzimas pancreáticas e do epitélio intestinal (Quigley et al., 1999). Desse modo, os oligossacarídeos e PNAs são os principais limitantes da inclusão de derivados de soja na alimentação de cães, uma vez que não são destruídos durante o tratamento térmico, exigindo processamento diferenciado para sua remoção.

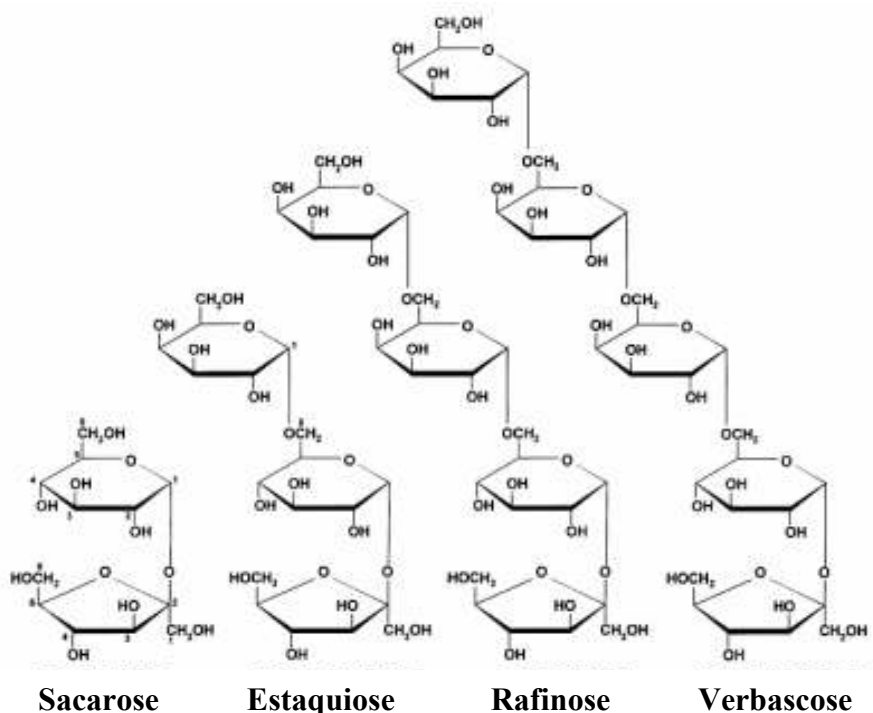


Figura 3. Principais oligossacarídeos da soja (Adaptado de Choct et al., 2010).

#### 2.5.1.2.3 Efeitos fisiológicos dos carboidratos indigestíveis

Os  $\alpha$ -galactosídeos e os PNAs da soja são altamente higroscópicos, em virtude do maior número de grupos hidroxilas livres e indigestíveis, devido à ausência da produção da  $\alpha$ -1,6-galactosidase no intestino delgado dos animais (Zuo et al., 1996). Em virtude disso, podem aumentar a viscosidade da digesta, prejudicando a interação entre as enzimas endógenas e os nutrientes e a difusão destes pela mucosa intestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta (Oakenfull, 1993).

As pectinas estão relacionadas à capacidade de troca catiônica da fibra vegetal, ligando-se à íons metálicos bivalentes, como o cálcio, magnésio, zinco e ferro, podendo interferir em sua absorção. Além disso, apresentam relação com o metabolismo de lipídios, uma vez que adsorvem parte dos sais biliares, impedindo que estes sejam reabsorvidos no íleo. Assim, há redução na recirculação entero-hepática dos sais biliares, induzindo a mobilização do colesterol endógeno para atender a síntese de ácidos biliares. As pectinas ainda possuem elevada capacidade higroscópica, determinando o aumento da umidade das fezes (Eastwood, 1992).

Além disso, esses carboidratos são fermentáveis no intestino grosso, gerando gases, como o  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  e  $\text{CH}_4$ , lactato e AGCC. A fermentação *in vitro* dos carboidratos da soja, com inoculo de microrganismos das fezes de suínos, resulta na produção de 2,4; 1,9; 0,7 e 5,0 mmol/g de matéria orgânica de acetato, propionato, butirato e AGCC totais, respectivamente (Smiricky-Tjardes et al., 2003). Em excesso, os AGCC, gases e o lactato aumentam a pressão osmótica intraluminal e a taxa de passagem no intestino grosso, resultando em maior volume e menor consistência das fezes e flatulência em cães (Coon et al., 1990; Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000). Ainda, o aumento no teor de água nas fezes dos cães também pode ser atribuído pela alta capacidade de retenção de água das fibras solúveis, a qual pode corresponder a mais de 10 vezes o seu peso em água (Choct, 1997).

Estudo desenvolvido em humanos demonstrou maior produção de gás intestinal por indivíduos que consumiram farinha de soja convencional (3,33% de estaquiose), em relação aos alimentados com farinha de soja com baixo teor de oligossacarídeos (0,46% de estaquiose) (Suarez et al., 1999). Entretanto, em cães ainda não foi mensurado o aumento da produção de gás intestinal em animais alimentados com derivados de soja contendo alto teor de oligossacarídeos.

Já, em relação à consistência das fezes, os estudos com derivados protéicos de soja, contendo alto teor de carboidratos, confirmam que estes resultam em menor

consistência das fezes dos cães (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Yamka et al., 2003; Yamka et al. 2005; Sá-Fortes, 2005; Yamka et al., 2006; Carciofi et al., 2009). Sendo que Yamka et al. (2003) encontraram redução linear no teor de matéria seca das fezes (38,9% à 26,5%) em cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de inclusão de farelo de soja (15,1% à 46,1%).

Embora os oligossacarídeos fermentáveis sejam reconhecidos como os principais responsáveis pela produção de fezes em maior volume e menos consistentes pelos cães, outros carboidratos fibrosos, como os PNA insolúveis em etanol, também contribuem para o aumento no teor de umidade das fezes. Fato este observado por Yamka et al. (2005), os quais não encontraram diferença no teor de umidade das fezes de cães alimentados com farelo de soja convencional (2,5% de estaquiose e 2,9% de fibra bruta) ou contendo baixo teor de oligossacarídeos (0,01% estaquiose e 2,7% de fibra bruta) (63,6% vs. 64,5%, respectivamente). Assim, além da extração dos oligossacarídeos da soja, é necessária a remoção dos demais carboidratos fibrosos para evitar os efeitos adversos destes sobre a consistência das fezes dos cães.

Apesar dos efeitos adversos dos oligossacarídeos e  $\beta$ -mananas da soja sobre a consistência fecal, estes podem apresentar efeito prebiótico no intestino. Esse fato foi relatado por Yamka et al. (2006), os quais observaram redução na produção de compostos putrefativos, prejudiciais à saúde intestinal e que causam mau odor nas fezes, como amônia, fenóis e indóis em cães alimentados com farelo de soja, em relação aos que receberam dieta contendo farinha de vísceras de aves. Segundo os autores, a redução na formação de compostos putrefativos pode estar relacionada à redução na fermentação da proteína no intestino, pela inibição no desenvolvimento de microrganismos proteolíticos, como o *Clostridium* spp.. Essa inibição se deve, principalmente, à redução no pH intestinal, conseqüente da produção de ácido láctico a partir da fermentação dos oligossacarídeos da soja por *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp., dentre outros microrganismos lácticos.

Além disso, Leeds et al. (1980) relataram redução na curva glicêmica pós-prandial e nos níveis de insulina sérica em suínos alimentados com dieta contendo  $\beta$ -mananas, podendo isso ser considerado em formulações específicas para cães obesos e/ou diabéticos. Assim, é importante se ponderar os efeitos da fração fibrosa da soja sobre a digestibilidade e características das fezes dos animais, pois, embora possa reduzir a digestibilidade e aumentar o teor de umidade fecal, pode apresentar



efeitos funcionais ao organismo, sendo necessário mais estudos em cães nesse sentido.

### 2.5.2 Processamento da soja

A figura 4 e a tabela 6 apresentam o fluxograma resumido do processamento do grão de soja para fabricação dos principais derivados protéicos e a composição química destes, respectivamente.

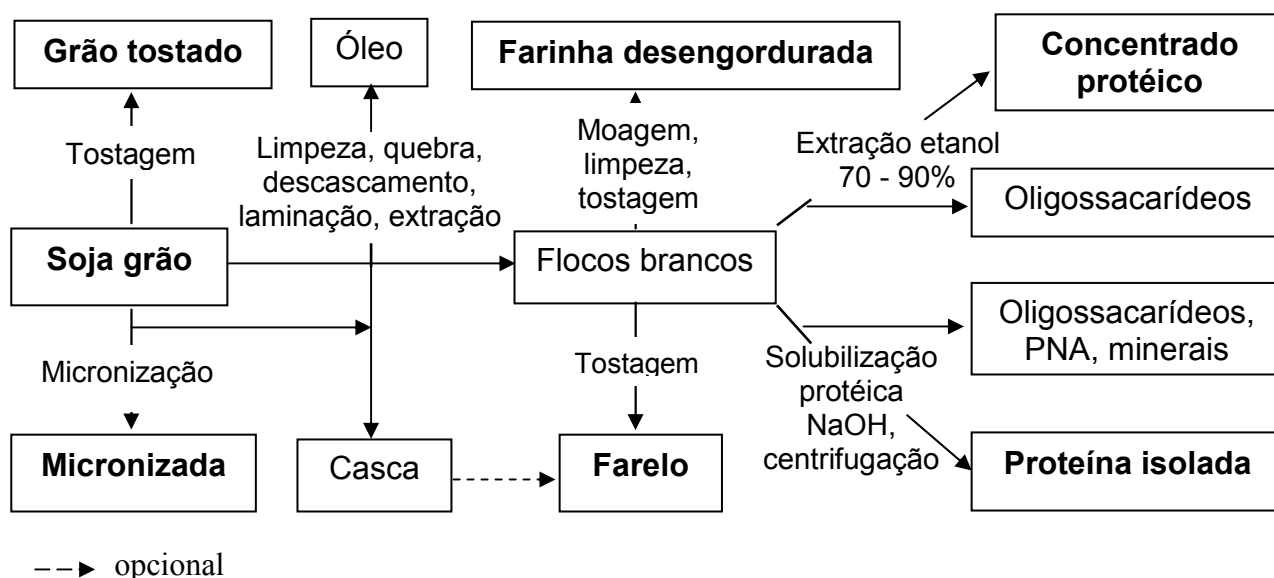


Figura 4: Fluxograma de processamento da soja grão para obtenção de derivados protéicos de soja (em negrito) utilizados na alimentação de cães.

Tabela 6. Composição química (% da matéria natural) de derivados protéicos de soja

Derivados de soja	MS	PB	EE	FB	FDN	FDA	MM	Ami	EB
Grão tostado	90,3	37,0	17,9	6,2	15,7	11,4	4,6	6,7	4,94
Farelo de soja 45%	88,6	45,3	1,7	5,4	13,9	8,2	5,9	2,4	4,08
Farelo de soja 48%	88,2	47,9	1,4	4,3	14,9	12,3	5,7	3,0	4,16
Farinha desengordurada	94,0	52,0	1,0	3,5	8,4	3,3	5,0	3,0	4,38
Soja micронizada	92,6	39,1	21,5	1,4	29,3	5,9	4,5	6,7	5,28
Concentrado protéico	89,9	62,9	0,4	2,6	10,6	6,6	4,8	-	4,94
Proteína isolada	94,0	87,0	0,5	0,1	3,2	0,8	4,8	-	5,55

MS: matéria seca, PB: proteína bruta, EE: extrato etéreo, FB: fibra bruta, FDN: fibra em detergente neutro e FDA: em ácido, MM: matéria mineral, Ami: amido, EB: energia bruta.

Adaptado de Lusas & Riaz (1995) e Rostagno et al. (2005)

#### 2.5.2.1 Soja tostada

De acordo com Navarro (1992) o uso de soja integral processada na nutrição animal pode ser vantajoso quando há limitações no uso de fontes de lipídios de origem vegetal ou animal, como por alto custo, armazenamento, conservação, mistura na ração ou quando o farelo de soja está escasso no mercado e seu preço é desfavorável. O autor ainda cita que por ser constituído principalmente por ácidos graxos polinsaturados e apresentar lecitina, o óleo de soja melhora o valor nutricional da dieta.

O grão de soja tostado apresenta perfil nutricional similar ao grão de soja integral, entretanto, é submetido a processamento térmico (tostagem) para inativação dos compostos antinutricionais termolábeis. A composição química do grão de soja tostado está apresentada na Tabela 6.

A autoclavagem ou tostagem à vapor é a técnica utilizada tradicionalmente na desativação dos fatores antinutricionais do grão de soja. O equipamento consiste em uma ou mais tubulações com uma rosca transportadora em seu interior, que movimenta a soja enquanto a submete diretamente ao vapor, com baixa pressão. Outra opção é o método misto, composto por cinco cilindros, sendo que no primeiro a soja é submetida diretamente ao vapor e nos demais cilindros passa dentro de camisas, sendo aquecida pelo vapor indiretamente. O produto passa pelos módulos em 15 minutos, sai com 19% de umidade a 100°C, em média, sendo submetido à secagem posteriormente. Neste processo, os lipossomos não são rompidos e o óleo permanece intracelular, sendo necessário triturar o produto para maior aproveitamento da energia (Waldroup, 1982).

#### 2.5.2.2 Farelo de soja

Para obtenção do farelo, os grãos de soja maduros com 10% à 12% de umidade podem passar por processo de pré-limpeza e seleção, para minimizar variações durante o processamento e, então, são quebrados em 6 à 8 pedaços por rolos quebradores. O pré-aquecimento dos grãos (55°C, aproximadamente) pode ser adotado nessa etapa para facilitar a remoção das cascas por aspiração. A casca é moída e tostada para posterior reincorporação ao farelo de soja. O grau de reincorporação da casca depende do teor de proteína desejado no farelo, com variações de 42% (maior incorporação de casca) à 50% (Hipro) (sem adição de casca) de PB (Lusas & Riaz, 1995).

Os cotilédones descascados e quebrados passam pelo condicionador e em seguida pela laminação (0,25 à 0,30 mm, aproximadamente) e expansão por vapor. Após a expansão, a soja segue para o resfriador e, em seguida, para o extrator de óleo, no qual grande parte dos lipídios é removida por solvente orgânico (geralmente hexano), produzindo os flocos brancos de soja. Os flocos brancos são por fim tostados, para desativar os fatores antinutricionais termolábeis e recuperar o hexano remanescente (Lusas & Riaz, 1995; Bellaver & Snizek, 1999). Os níveis nutricionais dos farelos de soja 45% e 50% de PB estão apresentados na Tabela 6.

#### *2.5.2.3 Farinha desengordurada de soja*

A farinha desengordurada de soja é obtida a partir dos flocos brancos de soja ou farelo de soja, após limpeza e re-moagem (<0,2 mm), não havendo reincorporação da casca. O produto resultante apresenta menor teor de fibras e maior concentração protéica (no mínimo 50% de PB) que o farelo de soja (Lusas & Riaz, 1995) (Tabela 6).

#### *2.5.2.4 Soja micronizada*

A produção de soja micronizada descrita à seguir é relatada pelo Boletim Técnico da Perdigão (s/d). Para a produção da soja micronizada, os grãos passam por peneiras de pré-limpeza para remoção de impurezas e por mesa gravitacional para remoção de grãos de baixa densidade e classificação. A classificação da soja é realizada para maior controle e adequação do processamento térmico, em três faixas de diâmetro: acima de 7,505 mm; de 6,320 a 7,505 mm e 5,330 a 6,320 mm.

Após a etapa inicial de limpeza e classificação, os grãos são conduzidos por um leito fluidizado, onde são submetidos ao aquecimento por vapor indireto a temperatura média de 176°C à 186°C durante 4 a 6 minutos, com pressão variando de 10 à 13 kgf/cm<sup>2</sup>. O leito fluidizado é caracterizado por uma camada de soja ao longo de uma esteira (chapa perfurada) impulsionada por pás. O ar quente, praticamente saturado, circula transversalmente (de baixo para cima) ao fluxo da soja, promovendo a degeneração de enzimas e fatores antinutricionais, além da conseqüente redução da umidade dos grãos. A esteira se move em velocidade entre 38 e 45 rpm e recebe camadas de soja grão em intervalos constantes, de forma a aquecer os grãos uniformemente.

Após o tratamento térmico, o grão de soja é quebrado em duas partes e descascado. A casca é então removida por aspiração e o grão quebrado é resfriado, uma vez que, devido à plasticidade da soja em altas temperaturas, o resfriamento é fundamental para auxiliar a moagem.

O grão quebrado e descascado é submetido à pré-moagem em moinhos de martelo, com formação de partículas de 0,1 a 0,2 mm de diâmetro. Esse produto pré-moido é micronizado em moinhos de rolos, constituídos por sistema de segurança que afasta os cilindros na falta de material, evitando o desgaste por atrito, e sistema de resfriamento por distribuição de água fria no interior dos mesmos. A refrigeração é de fundamental importância, para evitar o aquecimento dos rolos, o qual alteraria as condições de umidade, atividade ureásica e solubilidade protéica da soja. Em função do processamento e da retirada da casca, a soja micronizada apresenta altos teores de PB (40%) e EE (25%) e baixo teor de fibras (1,5%) (Tabela 6).

#### *2.5.2.5 Concentrado protéico de soja (CPS)*

O CPS apresenta no mínimo 65% de PB (Tabela 6). É obtido por meio da remoção da casca, óleo e oligossacarídeos do grão da soja. O processo de extração dos oligossacarídeos é caracterizado, basicamente, pelo tratamento dos flocos brancos desengordurados de soja ou do farelo de soja Hipro com solução aquosa de etanol a 70-90%; lavagem com água em pH isoelétrico (4,5) ou desnaturação protéica com calor úmido antes da extração com água. Aproximadamente 90% dos oligossacarídeos da soja são removidos durante o processo (Choct et al., 2010) e o efeito antigênico das proteínas de reserva glicinina e  $\beta$ -conglucina é reduzido, por desnaturação destas (Lusas & Riaz, 1995).

Em virtude dos processamentos para obtenção do CPS se basearem na insolubilização da proteína, para remoção dos resíduos solúveis, estes podem reduzir a solubilidade protéica em KOH e o IPD. Apesar disso, a redução na solubilidade protéica nesse caso, não compromete a digestibilidade desta tanto quanto à insolubilização protéica resultante da formação de pontes dissulfeto e outras interações entre cadeias polipeptídicas, com o aquecimento térmico excessivo. Além disso, a solubilidade protéica pode ser restabelecida pelo tratamento com álcalis após insolubilização em pH isoelétrico e extração dos oligossacarídeos ou pela utilização de enzimas para hidrolisar a proteína (Lusas & Riaz, 1995).

#### 2.5.2.6 *Proteína isolada de soja (PIS)*

A PIS, que contém pelo menos 85% de proteína bruta, é preparada a partir dos flocos ou farinha desengordurada de soja, que recebe tratamento térmico brando para inativar os fatores antinutricionais. Por se isolar praticamente apenas a fração protéica, é altamente digestível, uma vez que há remoção dos carboidratos indigestíveis da soja. Além disso, o efeito antigênico das proteínas glicinina e  $\beta$ -conglucina é reduzido, por desnaturação destas (Lusas & Riaz, 1995). A composição química da PIS está apresentada na Tabela 6.

O processo de preparo da PIS envolve a extração da fração protéica da farinha ou flocos desengordurados com solução alcalina diluída, como o hidróxido de sódio (pH ~ 9,0), seguida por centrifugação, para eliminar o resíduo insolúvel e obter o extrato alcalino. Após, há a adição de ácido hidrocloreídrico ou fosfórico até atingir o pH isoeletrico (pH 4,5) da fração protéica e centrifugação, para separação do precipitado (isolado protéico isoeletrico) e do sobrenadante (composto principalmente por carboidratos, lipídios e minerais). O precipitado é, então, lavado com água fria, para eliminar o resíduo do ácido e é tratado com álcali até pH 7 à 8, para dispersão. Por fim, a PIS é seca por atomização (*Spray Dryer*) (Sgarbieri, 1996).

#### 2.5.3 *Digestibilidade*

Na Tabela 7 está apresentada uma compilação dos CDA da PB de dietas contendo derivados protéicos de soja como principal fonte protéica em cães. Nota-se que o farelo de soja é o ingrediente mais estudado, uma vez que é o derivado protéico de soja mais utilizado em alimentos extrusados. Em contrapartida, há escassez de informação referente a digestibilidade da proteína dos demais derivados protéicos de soja para cães, principalmente da digestibilidade específica dos nutrientes desses ingredientes e não das dietas contendo o alimento em estudo.

Tabela 7. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da proteína bruta de dietas contendo derivados de soja como principal fonte protéica em cães.

Referência	FS	SM	SGT	FDS	CPS	PIS
Wiernusz et al.(1995)	-	-	-	87,0	89,8	-
Zuo et al. (1996)	80,3-84,6	-	-	-	-	-
Murray et al. (1997)	-	-	-	88,3	-	-
Zhao et al. (1997)	-	-	-	-	-	82,6-92,3
Clapper et al. (2001)	83,9	-	-	87,3	84,7-89,3	-
Yamka et al. (2003)	64,3-68,6	-	-	-	-	-
Sá-Fortes (2005)	83,9*	88,6*	-	-	-	-
Yamka et al. (2005)	76,7-83,8	-	76,8	-	-	-
Carciofi et al. (2006)	86,3	-	-	-	-	-
Cavalari et al. (2006)	-	-	80,0	-	-	-
Yamka et al. (2006)	84,5-85,6	-	-	-	-	-
Carciofi et al. (2009)	86,0	87,0	-	-	-	-

\*Digestibilidade do ingrediente; FS: farelo de soja; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; FDS: farinha desengordurada; CPS: Concentrado protéico de soja; PIS: proteína isolada de soja.

Resultados divergentes são relatados na literatura sobre a digestibilidade de dietas contendo derivados de soja com diferentes teores de oligossacarídeos, como por Clapper et al. (2001) e Zuo et al. (1996). Os autores não observaram diferenças nos CDA da PB em cães alimentados com dietas contendo farelo de soja (85,3%) e CPS (84,3%, em média) (Clapper et al., 2001) e farelos de soja com baixo teor de oligossacarídeos (82,7%, em média) (Zuo et al., 1996), não relatando diferenças inclusive na digestibilidade ileal da PB. Já, Yamka et al. (2003) relataram redução na digestibilidade ileal da MS (80,7% à 33,8%) e PB (65,4% à 51,1%) de dietas contendo elevado teor de oligossacarídeos (15% à 46% de FS e 0,5% à 5,2% de estaquiose, respectivamente), mas não do CDA do trato total da PB em cães, indicando que parte da proteína não digerida foi fermentada no cólon.

Assim, é provável que apenas níveis superiores a 3% de estaquiose reduzam a digestibilidade e EM do alimento, uma vez que os derivados de soja utilizados nos estudos de Zuo et al. (1996) e Clapper et al. (2001) resultaram em dietas com teor de estaquiose menor que 3%. Além disso, outros carboidratos indigestíveis, como fibras insolúveis, remanescentes na soja após tratamento com solução de etanol,

também podem resultar nos efeitos adversos supracitados sobre a digestibilidade, EM e características das fezes dos cães, sendo necessário mais estudos sobre os efeitos dos distintos carboidratos da soja sobre esses parâmetros em cães.

Em relação às farinhas de origem animal, Clapper et al. (2001) ao determinarem a digestibilidade de dietas contendo derivados da soja (farelo de soja e CPS) e farinha de vísceras de aves, relataram que os CDA da PB e dos aminoácidos totais foram similares para as dietas contendo os produtos da soja (respectivamente 86,3% e 85,2% em média), sendo esses resultados superiores aos apresentados pela farinha de vísceras de aves (76,9 e 74,2%, respectivamente). Resultados semelhantes foram obtidos por Sá-Fortes (2005) e Carciofi et al. (2006), os quais relataram maior CDA da MS e PB para o farelo de soja, em relação aos ingredientes protéicos de origem animal avaliados em cães.

As farinhas de origem animal podem apresentar diferentes proporções de cabeça, pescoço, pés, intestinos e a inclusão indevida de penas e cascos, dependendo da farinha. Além disso, variáveis como temperatura, pressão e tempo de processamento, também podem comprometer a qualidade do produto, em virtude da carbonização da matéria orgânica e da desnaturação de aminoácidos (Fahey & Hussein, 1998; Johnson et al., 1998). Fato este demonstrado por Johnson et al. (1998), os quais avaliando diferentes temperaturas (110 e 145°C) de processamento de farinhas de origem animal, relataram redução na digestibilidade dos aminoácidos totais nas farinhas processadas em maior temperatura (84,0% para 75,2%)

Por outro lado, Neirink et al. (1991) trabalhando com três fontes protéicas de origem animal *in natura* (pulmão, vísceras e carne moída) e o farelo de soja para cães, relataram menor coeficiente de digestibilidade para o farelo de soja. Segundo os autores, a menor digestibilidade pode estar relacionada com a maior quantidade de fibras do farelo de soja. Além disso, as fontes protéicas de origem animal avaliadas eram *in natura* e não farinhas processadas.

Avaliando quatro ingredientes protéicos derivados da soja para suínos, Mendes et al. (2004) encontraram CDA da MS de 93,2% para a soja micronizada, sendo este valor superior aos encontrados para o farelo de soja (85,6%), soja semi-integral extrusada (81,8%) e soja integral expandida (74,4%). A soja micronizada também obteve maiores CDA da PB, energia bruta e extrato etéreo. O CDA da PB foi de 95,2% para soja micronizada, 90,8% para o farelo de soja, 86,1% para a soja semi-integral extrusada e de 73,9% para a soja integral expandida. Do mesmo

modo, estudos em cães também encontraram maiores CDA da PB para a soja micronizada, em relação ao farelo de soja (Sá-Fortes, 2005; Carciofi et al., 2009). Segundo Mendes et al. (2004) a maior digestibilidade da soja micronizada pode estar relacionada ao baixo teor de fibra bruta do ingrediente e à eficiência da micronização, tornando os nutrientes mais acessíveis à digestão enzimática.

## **2.6 Uso de enzimas exógenas na alimentação de cães**

Como descrito anteriormente, os carboidratos indigestíveis da soja podem prejudicar a digestibilidade da dieta, causar flatulência e resultar na produção de fezes menos consistentes e em maior volume pelos cães. Ainda, segundo Choct et al. (2010) os PNA presentes em sementes de leguminosas, como a soja, são mais complexos (contém pelo menos de quatro a seis tipos de ligações diferentes) e, portanto, mais difíceis de serem hidrolisados, que os presentes em cereais. Isso se deve, principalmente, à presença de substâncias pécticas (ramnogalacturonanas, galacturonanas, arabinanas, galactanas), as quais possuem propriedades coloidais e polissacarídeos neutros, como as glicomananas e galactomananas.

A remoção dos oligossacarídeos e PNA pode ser feita por meio do processamento dos flocos desengordurados de soja com solução de etanol (CPS) ou insolubilização e isolamento da fração protéica desta (PIS), porém isso onera o preço final dos derivados obtidos (Lusas & Riaz, 1995). Além disso, no caso do CPS, a solução de etanol não remove determinados PNA, que também deprimem a digestibilidade (Yamka et al., 2006).

Uma alternativa a esses processos seria o uso de enzimas exógenas, o qual é prática antiga na alimentação de aves e suínos e tem demonstrado aumento do aproveitamento nutricional de dietas com alto teor de PNA (Fry et al., 1957; Coon et al., 1990; Jackson et al., 2004; Kim et al., 2006; Zou et al., 2006; Li et al., 2010). Entretanto, os resultados do uso de enzimas exógenas sobre a biodisponibilidade dos nutrientes da dieta para cães ainda são inconsistentes, em virtude do restrito número de trabalhos (Twomey et al., 2003; Yamka et al., 2006).



### 2.6.1 Produção de enzimas exógenas

A produção de enzimas exógenas consiste no processo de fermentação, por meio da aplicação do inóculo (levedura, fungo ou bactéria) previamente preparado em laboratório sobre um substrato, sob condições ideais de ambiente que permitam o processo fermentativo. Ao final deste processo é realizada a separação da biomassa, com posterior resfriamento, centrifugação e concentração. Por fim, são realizadas as etapas de filtração, padronização e controle de qualidade, conforme a apresentação do produto comercial, líquido ou sólido (Cowan, 1993). As carboidrases são obtidas principalmente por bactérias do gênero *Bacillus*, leveduras, como a *Pichia pastoris* e fungos do gênero *Aspergillus* (Zhang et al., 2006; Chen et al., 2007).

### 2.6.2 Efeito das enzimas exógenas sobre a digestibilidade

As enzimas digestivas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas, apresentando um sítio ativo com a capacidade de atuar sobre um substrato específico, hidrolizando-o. Essa ação catalítica é específica e é determinada pelas estruturas primária, secundária, terciária e quaternária das enzimas. Qualquer alteração na estabilidade das enzimas provoca alteração na estrutura destas proteínas, resultando em perda de sua capacidade catalítica (Cowan, 1993).

O principal objetivo da utilização de  $\alpha$ -galactosidase em dietas contendo derivados de soja é a hidrólise das ligações  $\alpha$ -1,4 galactosídeas dos oligossacarídeos, como a estaquiose e a rafinose. A hidrólise dessas moléculas resulta em açúcares menores, como a glicose, galactose e frutose, os quais são facilmente absorvidos pela mucosa intestinal, evitando a fermentação dos oligossacarídeos no intestino grosso (Choct et al., 2010).

Já, as  $\beta$ -1,4-mananases clivam as ligações 1,4- $\beta$ -D mananas das cadeias das glicomananas e galactomananas, liberando moléculas menores (McCleary & Matheson, 1986), o que reduz a viscosidade no intestino (Bedford, 1993). Ainda, a utilização de xilanase, além de reduzir a viscosidade da digesta, pode modificar a estrutura da parede celular, permitindo maior acesso das enzimas endógenas sobre os nutrientes presentes no interior da célula. Desse modo, permitem maior atuação das enzimas digestivas sobre os nutrientes, bem como maior absorção destes pelo epitélio intestinal, em virtude da redução na viscosidade da digesta e liberação de nutrientes contidos no interior celular (Choct et al., 2010).

Em função da complexidade de ligações e tipos de carboidratos indigestíveis presentes na soja, Yu & Chung (2004) citam que, para redução significativa dos efeitos adversos dessas substâncias sobre o SGI, é necessário combinar diferentes carboidrases, justificando a utilização de misturas enzimáticas na nutrição animal.

Melhorias na digestibilidade de dietas suplementadas com enzimas exógenas são relatadas em trabalhos realizados em aves e suínos. Kim et al. (2006) relataram aumento na digestibilidade da MS, aminoácidos e energia de dietas à base de milho e farelo de soja contendo 0,05% de um *blend* enzimático ( $\alpha$ -1,6-galactosidase,  $\beta$ -1,4-mananase e  $\beta$ -1,4-manosidase) em suínos. De modo semelhante, Li et al. (2010) também relataram aumento no CDA da PB e na energia metabolizável (+119,5 kcal/kg) em frangos suplementados com 0,2% de  $\beta$ -1,4-mananase.

Utilizando 0,10% de um *blend* enzimático composto por  $\alpha$ -galactosidase, pectinases, celulase e proteases, Garcia et al. (2000) observaram aumento na metabolizabilidade da energia e proteína de dietas contendo soja integral extrusada ou farelo de soja em frangos de corte. Já, Smiricky et al. (2002) relataram aumento expressivo na digestibilidade ileal da estaquiose e rafinose em dietas contendo farelo de soja suplementadas com  $\alpha$ -galactosidase em suínos.

Apesar disso, os poucos estudos em cães com enzimas exógenas não relatam melhoria na digestibilidade. Como o desenvolvido por Twomey et al. (2003), com um *blend* enzimático composto por xilanase,  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase, dentre outras enzimas, em dietas à base de milho ou sorgo e o de Yamka et al (2006), avaliando uma dieta contendo 30% de farelo de soja, suplementada com 0,50% de  $\beta$ -mananase.

Os autores supracitados também não relataram aumento na consistência das fezes dos cães alimentados com dietas contendo enzimas, sendo que inclusive, Twomey et al. (2003) observaram produção de fezes menos consistentes pelos cães. Ainda, Yamka et al. (2006) verificaram tendência para maior produção de gás intestinal em cães alimentados com dietas contendo  $\beta$ -mananase. Segundo os autores, o uso de carboidrases nas dietas pode aumentar a disponibilidade de substrato para a microbiota intestinal, uma vez que reduz o tamanho das moléculas, aumentando a taxa de fermentação.

## 2.7 Metodologias para avaliação nutricional de alimentos em cães

A falta de padronização e definição de metodologias precisas, exatas e exequíveis para aferição da digestibilidade e energia metabolizável de ingredientes em cães, contribui para a escassez de dados sobre o assunto. Assim, são descritas a seguir, as principais metodologias para avaliação da digestibilidade de dietas e ingredientes na espécie canina.

### 2.7.1 Digestibilidade

O potencial de um alimento em prover nutrientes ao organismo pode ser estimado por análises químicas. No entanto, a real disponibilidade dos nutrientes de um alimento ao animal só pode ser determinada por ensaios de digestibilidade, por meio da mensuração das perdas que ocorrem durante os processos digestivos dos nutrientes.

O CDA determinado no trato total é o método mais utilizado para aferição da qualidade nutricional dos alimentos. Este se baseia na avaliação das frações nutricionais ingeridas e excretadas nas fezes, sem considerar as frações de origem endógena presentes nas fezes, como: enzimas, mucoproteínas, células de descamação, bactérias, etc. Existem, basicamente, dois métodos para a realização de ensaios de digestibilidade, o método convencional ou de coleta total e o dos indicadores ou substâncias índices.

#### 2.7.1.1 Método da coleta total de fezes

O método de coleta total é o mais utilizado para determinar a digestibilidade e a energia metabolizável dos nutrientes de alimentos em cães e outras espécies não-ruminantes. Segundo a Associação Americana de Controladores de Alimentos (AAFCO, 2004) a digestibilidade e a energia metabolizável mensuradas pela coleta total de fezes e urina deve ser realizada em no mínimo seis cães adultos, os quais são alimentados, segundo suas necessidades de energia metabolizável (kcal/dia) ( $132 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ ), com uma dieta de composição nutricional conhecida durante cinco dias para adaptação, seguido por cinco dias de mensuração da quantidade total de alimento consumido e de fezes e urina excretadas. Dessa forma, é realizado o balanço entre o que foi ingerido e o que foi excretado, como aferido pela equação:

$$\text{CDA (\%)} = [(\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente ingerido}] \times 100$$

A energia metabolizável (EM) do alimento pode ser estimada sem coleta de urina, por meio de um fator de correção para as perdas energéticas pela urina, segundo a AAFCO (2004), como:

$$\text{EM (kcal/g)} = \{ \text{kcal/g EB ingerida} - \text{kcal/g EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}] \} / \text{g ração ingerida}$$

#### 2.7.1.2 Método dos indicadores

Embora não necessite de análises, além das de rotina para determinar a digestibilidade das frações nutricionais, o método da coleta total de fezes requer maior tempo de coleta e controle rigoroso da quantidade de alimento ingerido e das fezes excretadas. Já, o método dos indicadores, pode ser realizado em menor período (cinco dias de adaptação e três dias de coleta de fezes para cães, segundo a AAFCO, 2004) e não depende da mensuração do ingerido e excretado. Portanto os CDA e a EM, sem coleta de urina, podem ser calculados segundo a concentração do indicador no alimento e nas fezes, conforme as equações 1 e 2, respectivamente:

$$[1] \text{ CDA (\%)} = 100 - [(\% \text{ indicador no alimento} / \% \text{ indicador nas fezes}) \times (\% \text{ nutriente nas fezes} / \% \text{ nutriente no alimento}) \times 100]$$

$$[2] \text{ EM (kcal/kg)} = \{ \text{kcal/g EB alimento} - [\text{kcal/g EB fezes} \times (\% \text{ indicador alimento} / \% \text{ indicador fezes})] \} - \{ \% \text{ PB alimento} - [\% \text{ PB fezes} \times (\% \text{ indicador alimento} / \% \text{ indicador fezes})] \} \times 1,25$$

Por ser inerte no SGI, considera-se um indicador ideal, a substância que é eliminada nas fezes na mesma proporção em que foi ingerida pelo animal (taxa de recuperação próxima a 100%); não é tóxica; inalterada no SGI; não influencia os processos fisiológicos; apresenta mesma taxa de fluxo que a digesta e pode ser determinada em laboratório com praticidade e precisão (Zeoula et al., 1992; Sales & Janssens, 2003).

As substâncias inertes podem ser classificadas em dois grupos: indicadores externos e internos. Os indicadores externos caracterizam-se por ser adicionados ao

alimento ou administrados ao animal, como o óxido crômico, dióxido de titânio, sulfato de bário, lignina modificada do eucalipto, entre outros. Dentre estes, o óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) é o mais utilizado em estudos com cães (Harmon, 2007). No entanto, apresenta algumas limitações, tais como taxas de recuperação variáveis, dependendo da composição do alimento; propriedades carcinogênicas; oxidação de gorduras insaturadas presentes na dieta; influência negativa no consumo de alimento pelos animais e valores encontrados podem variar dependendo do método analítico utilizado (Sales & Janssens, 2003; Harmon, 2007).

Por outro lado, os indicadores internos, os quais estão presentes naturalmente nos alimentos, como a cinza insolúvel em ácido (CIA), fibra bruta (FB), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, têm mostrado eficácia na determinação da digestibilidade em aves, suínos e cães (Carciofi et al., 1998). Além da facilidade de utilização dos indicadores internos, uma vez que não se necessita administrá-los aos animais ou misturá-los à dieta, por estarem naturalmente nos alimentos, estes geralmente se distribuem uniformemente na digesta durante os processos de digestão e excreção (Sales & Janssens, 2003).

Apesar das vantagens do método dos indicadores, a composição da dieta, como nível de minerais, fibras e o uso de enzimas, pode influenciar a estimativa da digestibilidade do alimento dependendo do indicador utilizado, em virtude de alterações na taxa de passagem da digesta e interações entre o indicador e os componentes da dieta (Scott & Boldaji, 1997; Dourado et al., 2010), sendo necessários mais estudos que avaliem o efeito da dieta sobre a taxa de recuperação dos indicadores.

#### 2.7.1.2.1 CIA

A CIA é o indicador interno mais utilizado em estudos com aves, apresentando potencial de uso em estudos com cães. A CIA é o resíduo mineral, principalmente sílica, remanescente após o tratamento da amostra com ácido clorídrico (HCl) e queima em forno mufla, não sendo absorvida pelo SGI. Portanto, é determinada gravimetricamente, após secagem da amostra, queima, fervura com HCl, filtragem, lavagem e segunda queima em forno mufla (Van Keulen & Young, 1977).

Embora a CIA ocorra naturalmente nos alimentos, principalmente em ingredientes de origem vegetal, na forma de sílica, esta pode ser adicionada à dieta

em sua forma purificada (Celite®, terra diatomácia), atuando como indicador externo. A adição de uma fonte purificada de sílica é recomendada quando a dieta provê menos que 0,75% de CIA (Thonney et al., 1985), para minimizar os erros associados à sua determinação laboratorial, o que comprometeria a estimativa da digestibilidade. Nesse caso, é recomendável a adição de sílica em dietas para cães contendo alto nível de inclusão de farinhas de origem animal.

As concentrações de CIA em alguns ingredientes utilizados na alimentação de bovinos foram determinadas por Zeoula et al. (1992). Os autores relataram teores de CIA de 9,31% na palha de arroz, 0,67% no farelo de soja, 0,14% no milho moído, 0,15% na raspa de mandioca e 0,24% no sorgo moído.

Avaliando três concentrações de HCl (concentrado, 4N e 2N) para determinação da CIA, Van Keulen & Young (1977) observaram diferenças entre os resultados analíticos obtidos pelos três métodos, as quais se refletiram na taxa de recuperação deste indicador, que foi de 103%, 96,7% e 95,8% com o ácido a 4N, concentrado e 2N, respectivamente. Apesar dessas diferenças, os CDA da MS estimados pelos três procedimentos não diferiram daqueles determinados pelo método de coleta total em ovelhas. Os autores concluíram, ainda, que as baixas concentrações de CIA em um dos alimentos estudados (0,21%) resultaram em maiores variações analíticas em comparação aos alimentos contendo concentrações superiores dessa substância.

Johnson et al. (1998) encontraram taxa de recuperação média de 96% para a CIA em dietas contendo farinhas de origem animal para cães. Enquanto outros estudos relatam que a CIA superestimou a digestibilidade das dietas (Stein et al., 2006, Leão et al., 2008). O fato da CIA superestimar a digestibilidade pode ocorrer pela incompleta solubilização de minerais solúveis em HCl, como o cálcio e o fósforo nas fezes dos animais, superestimando o teor de CIA. Assim, Sales & Jansen (2003) citam que o método de Van Keulen & Young (1977), com duas queimas da amostra na mufla, com tratamento de HCL entre as queimas é o mais adequado para se evitar superestimativa da digestibilidade da dieta. Os autores ainda comentam que cuidados devem ser tomados ao adicionar fontes exógenas de CIA na dieta, uma vez que altos níveis de inclusão de CIA (superiores à 1,0%) podem reduzir a taxa de passagem da digesta, interferindo sobre a digestibilidade e resultando em excreção inconstante de CIA, em virtude do maior tempo de retenção desse indicador no intestino.

Desse modo, deve-se verificar a metodologia mais adequada para determinação da CIA, particularmente em amostras com alto teor de resíduo mineral, para se evitar que minerais solúveis em HCl sejam erroneamente contabilizados como CIA. Além disso, deve-se atentar aos níveis de CIA da dieta, uma vez que níveis baixos ou altos podem interferir sobre sua taxa de recuperação.

#### **2.7.1.2.2 FB**

A fração FB corresponde ao resíduo insolúvel após fervura da amostra com ácido e álcali, o qual é composto basicamente por celulose, lignina e parte da hemicelulose insolúvel (AOAC, 1995). Os cães não produzem enzimas para digerir os carboidratos estruturais da parede celular, sendo que a fração fibrosa insolúvel sofre mínima alteração em seu SGI (NRC, 2006), com digestibilidade aparente da celulose variando de -0,2 à 1,9% nessa espécie (Lewis et al., 1994).

Segundo Sales & Jansen (2003), apesar da FB possuir potencial de uso como indicador para aves, a possibilidade de fermentação de parte desse componente pela microbiota intestinal pode resultar em erros na estimativa da digestibilidade. Embora essa questão seja relevante para aves, cães apresentam menor capacidade fermentativa no intestino grosso, como citado pelo NRC (2006) e Lewis et al. (1994), portanto, o uso da FB como indicador interno pode ser considerado para a espécie. Apesar disso, não foram encontrados trabalhos que avaliassem a FB como indicador em cães. Entretanto, Carciofi et al. (1998) observaram que a FB pode ser utilizada para prever a digestibilidade dos alimentos em gatos, não diferindo dos resultados obtidos com a coleta total de fezes. Os autores ainda relatam que variações nos CDA obtidas por meio da FB podem estar relacionadas com os erros analíticos inerentes à sua determinação laboratorial.

#### **2.7.2 Métodos para determinação da digestibilidade de ingredientes**

A maioria das pesquisas sobre aferição do valor nutricional de ingredientes para cães é realizada, basicamente, por meio da avaliação da digestibilidade de dietas isonutritivas contendo a matéria-prima teste como principal fonte do nutriente em estudo. Entretanto, são escassas as informações referentes a digestibilidade e metabolizabilidade específicas de ingredientes em cães. Este fato é importante, especialmente, ao se considerar às possíveis interações entre o ingrediente estudado e as demais matérias primas da dieta, dificultando conclusões específicas

sobre a qualidade nutricional do ingrediente e a comparação entre os estudos e entre as matérias primas.

Como a maioria dos ingredientes não apresenta composição nutricional balanceada e/ou são pouco palatáveis para cães, inviabilizando a avaliação da sua digestibilidade por meio do fornecimento exclusivo destes, é possível utilizar métodos diretos ou indiretos com dietas balanceadas para isolar a digestibilidade dos nutrientes no ingrediente teste. Em virtude disso, são descritas abaixo as principais metodologias de avaliação da digestibilidade de ingredientes em animais.

#### 2.7.2.1 Método direto

O método direto necessita apenas de uma dieta para avaliação da digestibilidade do ingrediente. A fórmula da dieta utilizada deve permitir que o ingrediente testado seja a única fonte do nutriente a ser avaliado (Sauer et al., 2000), sendo sua digestibilidade determinada pela equação:

$$CDA_T (\%) = (CDA_D \times 100) / (CONC_T \times I_T)$$

Na qual:

$CDA_T$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente teste;

$CDA_D$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta;

$CONC_T$  = Concentração (g/kg) do nutriente no ingrediente teste;

$I_T$  = Nível de inclusão (%) do ingrediente teste na dieta.

Embora seja mais simples, exigindo apenas uma dieta e, portanto, menor número de animais para sua avaliação, dependendo do nutriente e ingrediente avaliados, pode resultar em desbalancamento da dieta, com interferência na determinação da digestibilidade. Este fato é importante, por exemplo, na determinação da digestibilidade aparente da proteína em ingredientes energéticos, como o milho, pois certamente haverá interferência mais expressiva das perdas endógenas sobre os resultados (Harmon, 2007). Além disso, inviabiliza a avaliação da energia digestível e metabolizável dos ingredientes, uma vez que dificilmente será possível utilizar um ingrediente como única fonte de energia em uma dieta balanceada extrusada.



### 2.7.2.2 Método da diferença

Segundo Fan & Sauer (1995) o método da diferença se baseia na avaliação de duas dietas, basal e teste. A dieta basal deverá conter um ingrediente basal, como única fonte do nutriente a ser avaliado, enquanto a dieta teste consistirá de uma mistura da dieta basal e do ingrediente teste. Por este método, assume-se que não há nenhum tipo de interação entre os nutrientes dos ingredientes basal e teste. Se essa premissa for verdadeira, os valores serão expressos segundo a equação 1. Sendo a digestibilidade do nutriente em questão determinada por meio da equação 2.

$$[1] \text{CDA}_{\text{DT}} (\%) = \text{CDA}_{\text{B}} \times \text{CONT}_{\text{B}} + \text{CDA}_{\text{T}} \times \text{CONT}_{\text{T}}$$

$$[2] \text{CDA}_{\text{T}} (\%) = (\text{CDA}_{\text{DT}} - \text{CDA}_{\text{B}} \times \text{CONT}_{\text{B}}) / \text{CONT}_{\text{T}}$$

Nas quais :

$\text{CDA}_{\text{DT}}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta teste;

$\text{CDA}_{\text{B}}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente basal;

$\text{CDA}_{\text{T}}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente teste;

$\text{CONT}_{\text{T}}$  = Contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente teste na dieta teste;

$\text{CONT}_{\text{B}}$  = Contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente basal na dieta teste, no qual:

$\text{CONT}_{\text{B}} = 1 - \text{CONT}_{\text{T}}$ .

### 2.7.2.3 Método da regressão

O método da regressão é descrito por Fan & Sauer (1995), como a metodologia que mede simultaneamente os valores de digestibilidade do nutriente em questão na dieta basal e teste. O ingrediente basal e o teste são misturados em níveis gradativos em uma série de dietas teste. Assim como para o método da diferença, pela regressão, assume-se que não haja interação entre os nutrientes dos ingredientes basal e teste. Caso ocorra interação entre os ingredientes, a relação entre  $\text{CDA}_{\text{T}}$  e  $\text{CONT}_{\text{B}}$  será curvilínea e os valores de digestibilidade não poderão ser determinados pelo método da regressão. Por outro lado, se não houver interação entre os valores de digestibilidade dos nutrientes entre os ingredientes, a relação linear entre os valores de digestibilidade da dieta teste e os níveis de contribuição do

nutriente do ingrediente basal para a dieta teste podem ser expressos segundo a equação 3.

$$\begin{aligned} \text{CDA}_{\text{DTi}} (\%) &= \text{CDA}_B \times \text{CONT}_{\text{Bi}} + \text{CDA}_T \times \text{CONT}_{\text{Ti}} \\ \text{CDA}_{\text{DTi}} (\%) &= \text{CDA}_B \times \text{CONT}_{\text{Bi}} + \text{CDA}_T \times (1 - \text{CONT}_{\text{Bi}}) \\ [3] \text{CDA}_{\text{DTi}} (\%) &= \text{CDA}_T + (\text{CDA}_B - \text{CDA}_T) \times \text{CONT}_B \end{aligned}$$

Na qual:

$\text{CDA}_{\text{DTi}}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta teste i;

$\text{CDA}_B$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente basal;

$\text{CDA}_T$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente teste;

$\text{CONT}_{\text{Ti}}$  = Contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente teste na dieta teste i;

$\text{CONT}_{\text{Bi}}$  = Contribuição (%/100) do nutriente do ingrediente basal na dieta teste i, no qual:  $\text{CONT}_{\text{Bi}} = 1 - \text{CONT}_{\text{Ti}}$ .

Em função do  $\text{CDA}_B$  e o  $\text{CDA}_T$  serem os coeficientes de digestibilidade aparente a serem determinados nos ingredientes basal e teste, respectivamente e definindo  $A = \text{CDA}_T$  e  $B = \text{CDA}_B - \text{CDA}_T$ , a equação 4 pode ser derivada da equação 3, na qual:

$$[4] \text{CDA}_{\text{DT}} (\%) = A + B \times \text{CONT}_B$$

A equação 4 é um modelo de regressão linear simples, no qual  $\text{CDA}_{\text{DT}}$  e  $\text{CONT}_B$  são variáveis dependente e independente, respectivamente. Assim, os coeficientes de regressão A e B podem ser estimados aplicando o modelo simples de regressão linear. No qual, baseado na análise de regressão, a intersecção e o seu erro padrão correspondente ( $A \pm \text{EP}$ ) provem a estimativa do coeficiente de digestibilidade do nutriente estudado no ingrediente teste e o seu erro padrão ( $\text{CDA}_T \pm \text{EP}$ ).

Este método apresenta como vantagens a possibilidade de se avaliar a digestibilidade do nutriente de dois ingredientes distintos simultaneamente e verificar possíveis interações entre estes. Entretanto, necessita de maior número de dietas (no mínimo quatro) e de unidades experimentais ou tempo de avaliação (repetição no tempo).

Os três modelos supracitados foram comparados para determinação dos CDA de aminoácidos da canola e cevada em suínos por Fan & Sauer (1995). Os autores concluíram que todos os métodos apresentaram resultados similares. Entretanto, a avaliação de ingredientes com baixo teor de aminoácidos, como a cevada, pelo método direto, resultou em maior erro, em função da maior interferência relativa das perdas endógenas.

#### 2.7.2.4 Método da substituição

O método da substituição foi proposto por Matterson et al. (1965) para aves e suínos e caracteriza-se pela substituição, com base na matéria seca, de uma dieta basal pelo ingrediente a ser avaliado, a qual geralmente é 20% à 60%, para a maioria das fontes protéicas e cereais. Os CDA dos nutrientes do ingrediente teste podem ser determinados segundo a equação:

$$CDA_T (\%) = CDA_{DB} + [(CDA_{DT} - CDA_{DB})/\% \text{substituição na MS}/100]$$

Na qual:

$CDA_T$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente no ingrediente teste;

$CDA_{DB}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta basal;

$CDA_{DT}$  = Coeficiente de digestibilidade aparente (%) do nutriente na dieta teste.

Esse método apresenta como vantagem o fato do ingrediente teste não precisar ser, necessariamente, a única fonte do nutriente a ser avaliado. Desse modo, permite a avaliação da digestibilidade de mais nutrientes simultaneamente. Além disso, a formulação da dieta basal é mais simples, uma vez que não necessita de ingredientes purificados. Entretanto, cuidados devem ser tomados na formulação da dieta basal, visando minimizar o desbalanceamento da dieta teste e, conseqüentemente, os erros associados à determinação da digestibilidade dos nutrientes do ingrediente.

Assim, recomenda-se que para a avaliação da digestibilidade de ingredientes protéicos seja formulada uma dieta basal com teores mínimos de proteína, como por exemplo, 19% à 22% de PB para cães adultos, de modo a não aumentar muito o nível protéico da dieta teste, com a inclusão da fonte protéica a ser avaliada. Deve se proceder ao inverso para a avaliação da digestibilidade de ingredientes energéticos, com níveis protéicos altos na dieta basal (26% à 30% de PB). Os

mesmos cuidados devem ser tomados para os demais nutrientes da dieta, para se evitar deficiências ou excessos extremos.

Assim como nos demais métodos supracitados, não deve haver interação entre o ingrediente teste com os demais ingredientes da dieta basal, uma vez que se atribui a magnitude (segundo a taxa de substituição) da diferença da digestibilidade entre as dietas ao ingrediente teste. Este problema de aditividade entre a dieta basal e o ingrediente teste já foi relatado por Villamide (1996) e Villamide et al. (1998) ao avaliarem a digestibilidade de ingredientes pelo método da substituição em coelhos.

O tamanho do erro também depende da taxa de substituição, sendo os maiores valores de erro encontrados em experimentos utilizando baixos níveis de substituição (Villamide, 1996; Villamide et al., 1998). Entretanto, embora haja menor erro com maiores níveis de substituição do ingrediente teste, maior será a probabilidade de interação entre o alimento teste e a dieta basal (Villamide et al., 1998). Desse modo, considerando esses fatores, as características do ingrediente a ser avaliado são importantes para a determinação do nível de substituição mais adequado.

### *2.7.3 Avaliação da produção de gás intestinal*

Como descrito anteriormente, a soja apresenta carboidratos fermentáveis no intestino grosso, que resultam em flatulência e desconforto intestinal em cães. Entretanto, os efeitos adversos dos oligossacarídeos da soja sobre o animal podem ser minimizados, basicamente, pela extração destes com solução de etanol ou pela suplementação de carboidrases exógenas à dieta. Desse modo, a mensuração da produção de gás intestinal é importante para se avaliar a efetividade destes métodos em reduzir a fermentação no intestino.

A produção de gás intestinal em cães foi pouco estudada, em virtude da relativa dificuldade em sua quantificação. Um dos métodos foi descrito por Collins et al. (2001) e utilizado por Yamka et al. (2006), para avaliação dos efeitos dos oligossacarídeos da soja sobre a fermentação intestinal. Nesse método, mensura-se a produção do sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) produzido no SGI, por meio de um monitorador de gás acoplado próximo ao anus do cão. Embora esse método possa ser efetivo na mensuração da produção de gás intestinal, exige aparato específico para essa finalidade. Uma alternativa seria a mensuração da área de gás intestinal

por meio da radiografia do sistema digestório do animal, o qual foi descrito em humanos por Koide et al. (2000) e adaptado para cães por Feliciano (2008).

Segundo Koide et al. (2000) o gás intestinal é facilmente identificável em radiografias abdominais em posicionamento laterolateral e ventrodorsal, como uma imagem radiotransparente (Figura 5), sendo de grande utilidade no diagnóstico de afecções intestinais. A quantidade de gás é considerada reflexo da função intestinal, podendo estar normal, aumentada ou reduzida, segundo a disfunção fisiológica ou nutricional. Desse modo, é possível se adotar uma classificação da quantidade de gás presente no intestino, segundo um escore, como: pouco, moderado e muito gás.

Além da análise qualitativa da quantidade de gás intestinal, por meio da digitalização da radiografia e o uso de um software de tratamento de imagens é possível se delimitar as áreas de gás no intestino e mensurá-las quantitativamente (Koide et al., 2000). Segundo Feliciano (2008) este método é recomendável para cães, uma vez que não é invasivo, sendo eficaz e relativamente simples de ser executado.

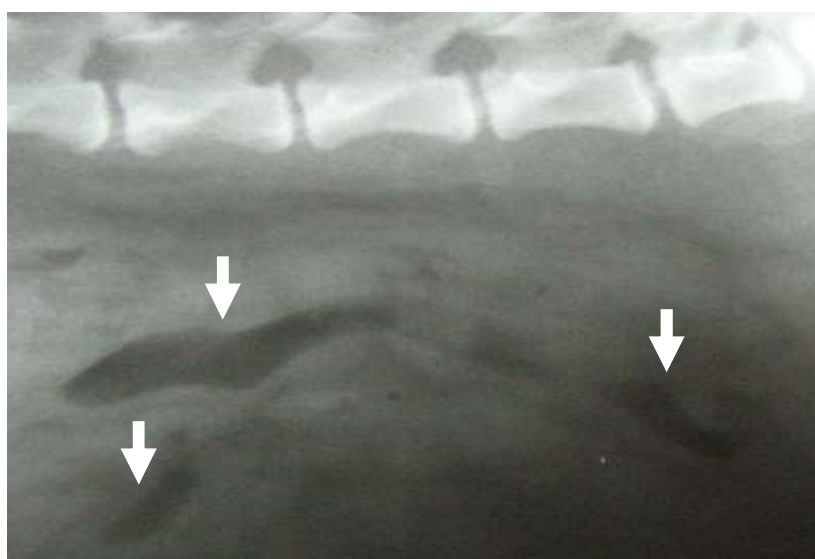


Figura 5. Detalhe de radiografia abdominal de cão da raça Beagle. As áreas mais escuras (radiotransparentes) indicam a presença de gás no lúmen intestinal (cetas).

#### *2.7.4 Avaliação da qualidade das fezes*

Os proprietários buscam cada vez mais fornecer aos cães alimentos de qualidade, que além de adequada nutrição, também promovam a saúde dos animais e resultem em fezes menos volumosas, mais consistentes e menos fétidas. Estas características são importantes variáveis a serem consideradas na escolha de um

alimento comercial, uma vez que também podem ser indicativas do estado de saúde intestinal dos animais.

Para avaliação da consistência das fezes produzidas pelos cães, pode-se adotar o método do escore de fezes e a determinação do teor de matéria seca. Por ser uma medida subjetiva é importante que o escore das fezes seja avaliado sempre pelo mesmo pesquisador. Segundo Sá-Fortes (2005) pode-se atribuir pontuação de um a cinco às fezes, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas. Assume-se que as fezes produzidas encontram-se dentro do ideal (não muito moles ou muito duras) quando a pontuação se enquadra dentro de três a quatro.

Vale ressaltar que nem sempre a melhor consistência de fezes para os donos dos cães é a melhor para os animais também. Fezes muito ressecadas e duras, apesar de facilitar a higienização do ambiente, predispõem a retenção fecal e podem resultar em distúrbios intestinais. Além do mais, o prolongamento da permanência das fezes no intestino grosso permite maior tempo de fermentação da fração protéica não digerida e, por conseguinte, maior exposição da mucosa intestinal a compostos putrefativos tóxicos. Portanto, é importante a formulação de dietas balanceadas, principalmente quanto à composição de fibras e qualidade das proteínas, visando promover a saúde intestinal dos animais e a produção de fezes com escore “ideal” (Félix, 2009).

Outras determinações que podem ser realizadas nas fezes, correlacionadas mais diretamente com a saúde intestinal, seriam a medição do pH, o qual está relacionado com o grau de fermentação intestinal e determinações diretas de AGCC (acético, propiônico e butírico, principalmente) e lactato. Além disso, pode-se avaliar a concentração de compostos putrefativos, como aminas biogênicas, indóis, fenóis, ácidos graxos de cadeia ramificada e amônia e a avaliação de microrganismos utilizando meios de cultura, ELISA ou extração de DNA das fezes seguido por reação em cadeia da polimerase (PCR) (Felix, 2009).

### 3. Considerações finais

O alto teor de proteína digestível de derivados de soja, aliado ao alto teor de lipídeos e energia digestíveis de sojas grão e micronizada, demonstram que estes ingredientes são bem aproveitados pelos cães. Desse modo, derivados protéicos de soja podem enriquecer as formulações comerciais, sobretudo quando associados à fontes protéicas de origem animal, para maior adequação dos aminoácidos essenciais. Entretanto, cuidados devem ser tomados em relação ao processamento térmico da soja, de modo a desativar os inibidores de proteases, sem comprometimento excessivo da solubilidade da proteína. Esse fato é importante, considerando que, em ambos os casos, a digestibilidade da fração protéica da soja pode ser comprometida.

Além disso, estudos demonstram que os carboidratos indigestíveis da soja prejudicam a digestibilidade e as características das fezes dos cães. Sendo necessária, além da remoção dos oligossacarídeos, a extração dos PNA insolúveis em etanol 80%, para aumentar a disponibilidade da matéria seca, proteína e energia da soja e promover a excreção de fezes mais consistentes pelos cães. Nesse sentido, mais estudos referentes aos tipos de extração desses carboidratos e o uso de enzimas exógenas são necessários, objetivando minimizar os efeitos adversos desses compostos em cães, em função da escassez de informações sobre o assunto para a espécie.

Considerando a importância da aferição do valor nutricional de alimentos para cães adultos e filhotes, as metodologias de avaliação da qualidade nutricional de ingredientes devem ser melhor investigadas, visando praticidade, precisão e acurácia na determinação da digestibilidade de alimentos e dos seus efeitos sobre a palatabilidade, produção de gás intestinal e características das fezes dos cães.

#### 4. Referências

ACOSTA, I.A.B.M. Que es la actividad ureasica? **Soya Notícias**, p.12-21, 1987.

AMTSBERG, G. *et al.* Influence of food composition on the intestinal flora of the dog. In: NUTRITION OF THE DOG AND CAT. 1980. **Anais...** Oxford: Pergamon Press, p.181–188, 1980

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES - ANFAR. Matérias-primas para a alimentação animal. 4. ed. São Paulo: Anfar, 1985. 65p.

ANDERSON, R.L.; WOLF, W.J. Compositional Changes in Trypsin Inhibitors, Phytic Acid, Saponins and Isoflavones Related to Soybean Processing. **Journal of Nutrition**, v.125, p.5815-5885, 1995.

ANTUNES, P.L.; SGARBIERI, V.C. Effect of heat treatment on the toxicity value of dry bean (*Phaseolus vulgaris* var. Rosinha G2) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.5, p.935-938, 1980.

ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of KOH solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poultry Science**, v.69, p.76–83, 1990.

ASSOCIAÇÃO DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO – ANFAL PET. **Boletim técnico**. 2010.

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.

BACH KNUDSEN, K.E. The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v.90, p.3-20, 2001.

BUDDINGTON, R.K. Structure and functions of the dog and cat Intestine. In: RECENT ADVANCES IN CANINE AND FELINE NUTRITIONAL RESEARCH, 1996. **Anais...** Califórnia: Internacional Nutrition Symposium, 1996.

BAILONI, L., *et al.* Estimation of content of pectins in feeds: Fractional extraction and quantitative determination. **Veterinary Research Communications**, v.27, p.249-251, 2003.

BALLOUN, S.L. **Soybean Meal in Poultry Nutrition**. American Soybean Association, St. Louis, MO, 1980.

BARCA, A.M.C., *et al.* Active soybean lectin in foods: isolation and quantification. **Food Chemistry**, v.39, n.3, p.321-327, 1991.



BATAGLIA, A.M. A extrusão no preparo de alimentos para animais. In: SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1990. Campinas. **Anais...** p.73-82, 1990.

BATAL, A.B., *et al.* Protein dispersibility index as an indicator of adequately processed soybean meal. **Journal of Poultry Science**, v.79, p.1592–1596, 2000.

BEDFORD, M. Mode of action of feed enzymes. **Journal of Applied Poultry Research**. v.2, p.85–92, 1993.

BELLAVER, C.; SNIZEK JR., P.N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de aves e suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999. **Anais...** Londrina: EMBRAPA Soja, 1999.

BELLAVER, C., *et al.* Soja integral: processamento e uso. **Alimentação Animal**, v.7, p.28-30, 2002.

BOLETIM TÉCNICO – PERDIGÃO – **Soja micronizada** (não publicado).

BORGES, A.L.C.C; GONÇALVES, L.C. Regulação da ingestão de alimentos. In: **Alimentos e alimentação de gado de leite**. Cadernos Técnicos da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. p.31-35, 1997.

BOUDREAU, J.C., *et al.* Neurophysiology of geniculate ganglion (facial nerve) taste systems: species comparisons. **Chemical Senses**, v.10, p.89-127, 1985.

BOUDREAU, J. C. **Neurophysiology and stimulus chemistry of mammalian taste systems**. In: *Flavor Chemistry Trends and Developments*. American Chemical Society Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, v.388, p.122-137, 1989.

BRADSHAW, J.W.S. Sensory and experiential factors in the design of foods for domestic dogs and cats. **Proceedings of the nutrition society**. v.50, p.99-106, 1991.

BROWN, W. Nutritional and ethical issues regarding vegetarianism in the domestic dog. **Recent Advances in Animal Nutrition**, v.17, p.137-143, 2009.

BUDDINGTON, R.K., *et al.* Activities of gastric, pancreatic, and intestinal brush-border membrane enzymes during postnatal development of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, p.627–34, 2003.

BUFFINGTON, C., *et al.* Lack of effect of age on digestibility of protein, fat, and dry matter in Beagle dogs. In: **Nutrition of the Dog and Cat**, ed. I Burger, J Rivers, p. 397. New York: Cambridge, 1989.

BURKHOLDER, W.J. Age-related changes to nutritional requirements and digestive function in adult dogs and cats. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.215, p.625–629, 1999.

BUTOLO, J.E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. 1ªed. Campinas: CBNA, 2002, 430p.

CAPRITA, A.; CAPRITA, R. Modification of the soluble protein content of heat-processed soybean flour. **Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.**, v.38, n.2, p.98-101, 2010.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Uso de indicadores internos na avaliação da digestibilidade aparente de alimentos para gatos – comparação de métodos. **Ciência Rural**, v.28, n.2, p.299-302, 1998.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.754-760, 2006.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.251-260, 2009.

CASE, L.P., *et al.* **Nutrição canina e felina**: manual para profissionais. Espanha: Harcourt Brace, 1998, 410p.

CAVALARI, A.P., *et al.* Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1985-1991, 2006.

CHEFTEL, J.C. *et al.* **Proteínas alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional e modificaciones químicas**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1989. 346p.

CHEN, X.L., *et al.* Cloning, functional expression and characterization of *Aspergillus sulphurous*  $\beta$ -mannanase in *Pichia pastoris*. **Journal of Biotechnology**, v.128, p.452–461, 2007.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p.13-26, 1997.

CHOCT, M. *et al.* Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. **Australian Journal of Animal Science**, v.23, n.10, 1386-1393, 2010.

CLAPPER, G. M., *et al.* Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected soybean protein inclusion in extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1523-1532, 2001.

COLLINS, S.B., *et al.* Development of a technique for the in vivo assessment of flatulence in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, p.1014–1019, 2001.

COON, C.N., *et al.* Effect of oligosaccharide-free soyabean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787–793, 1990.

COWAN, W.D.. Understanding the Manufacturing, Distribution, Application, and Overall, Quality of Enzymes in Poultry Feeds. **J. Appl. Poultry Res.**, v.2, p.93-99, 1993.

COWELL, C. S. *et al.* **Making commercial pet foods**. In: HAND, M. S. *et al.* (Ed). Small animal clinical nutrition. 4. ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p.127-146.

DALE, N. Solubilidade de la proteína: Indicador del procesado de la harina (pasta) de soya. **Asociación Americana de Soya**, 1991, 11p. ( Boletim Técnico, 89).

DIERICK, N.A. Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzyme and fermentation. **Archives of Animal Nutrition Berlin**, v.3, p.241–246, 1989.

DIPIETRO, C. M.; LIENER, E. Soybean protease inhibitors in foods. **Journal of Food Science**, v.54, p.606-609, 1989.

DODD, G.H., D. J. SQUIRREL. Structure and mechanism in the mammalian olfactory system. In: SYMPOSIA OF THE ZOOLOGICAL SOCIETY OF LONDON. 1980. **Anais...** Londres, p.91-95, 1980.

DOURADO, L.R.B., *et al.* Poultry Feed Metabolizable Energy Determination using Total or Partial Excreta Collection Methods. **ACTA**, v.12, n.2, p.129-132, 2010.

DUST, J.M., *et al.* Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of select food ingredients. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.2989-2996, 2004.

EASTWOOD, M.A. The physiological effect of dietary fiber: An update. **Annual Revision Nutrition**, v.12, p.19–35, 1992.

FAHEY JR., G.C.; HUSSEIN, H.S. The nutritional value of alternative raw materials. **Petfood Industry**, Maio/Junho, p.24–34, 1998.

FAHEY, G.C.Jr, *et al.* Age-related changes in nutrient utilization by companion animals. **Annual Revision Nutrition**. 28:425-45, 2008.

FAN, M.Z.; SAUER, W.C. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in barley and canola meal for pigs with the direct, difference, and regression methods. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2364-2374, 1995.

FELICIANO, M.A.R. **Suplementação de probiótico para cães filhotes da raça Beagle recebendo alimentos comerciais**. 2008. 150p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

FELIX, A.P. **Avaliação de aditivos sobre as características das fezes de cães**. 2009. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

FELIX, A.P., OLIVEIRA, S.G., MAIORKA, A. **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**. In: Vieira, S. Consumo e preferência alimentar de animais domésticos. 1ed. Phytobiotics Brasil: Londrina. Cap. 3. p.162-199, 2010.

FRANSEN, C.T.M. **Structural analysis of soy bean polysaccharides and transgalactosylation of products from lactose**. Tese (Doutorado em Engenharia de alimentos). University of Utrecht, The Netherlands, 1999.

FRÉMONT, G. Identification of Key Aroma Compounds for Cat and Dog Palatability. In: SPF'S II<sup>nd</sup> AMERICA LATINA SYMPOSIUM, 2007. **Anais...** Spécialités Pet Food. p.32-35, 2007.

FRY, R.E., *et al.* Influence of cereal grain components of the diet on the response of chicks and poults to dietary enzyme supplements. **Poultry Science**, v.36, p.1120–1120, 1957.

GARCIA, E.R.M., *et al.* Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1414-1426, 2000.

GRIESHOP, C.M.; FAHEY JR., G.C. The role of soy in companion animal nutrition. In: Soy in Animal Nutrition. Federation of Animal Sciences, Savoy, IL, p.171–181, 2000.

HAGUE, A. *et al.* Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate. **Gastroenterology**, v.112, p.1036–1040, 1997.

HANDLER, J.A. Hepatobiliary function in senescent male Sprague-Dawley rats. **Hepatology**, v.19, p.1496–1503, 1994.

HARMON, D. Experimental approaches to study the nutritional value of food Ingredients for dogs and cats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v., n.,p., 2007.

HARPER, E.J.; TURNER, C.L. Age-related changes in apparent digestibility in growing kittens. **Reproductive Nutr. Dev.** 40:249–260, 2000.

HAYASHI, T. Xyloglucans in the primary cell wall. **The Journal of Experimental Biology**, v.40, p.139-68, 1989.

HEIDENREICH, E. Operation strategies for expansion cooking. **Feed Mix**. v.2, p.32-34, 1994.

HERSCHEL, D.A. *et al.* Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**, v.42, p.1118–1124, 1981.

HIDAKA, H. *et al.* The effects of undigestible fructooligosaccharides on intestinal microflora and various physiological functions on human health. In: Furda. I ed. **New Development in Dietary Fiber**. New York: Plenum press, p.105, 1990.

HOLAY, S. H., HARPER, J.M. Influence of extrusion shear environment on plant texturization. **Journal Food Science**, v.47, n.6, p. 1869-1874, 1982.

HOUPT, K.A., *et al.* The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses**, v.3, p.281-290, 1978.

HOUPT, K.A.; SMITH, S.L. Taste preferences and their relation to obesity in dogs and cats. **The Canadian Veterinary Journal**. v.22, p.77-81, 1981.

HSIAO, H.Y., *et al.* Levels of  $\beta$ -mannan in soybean meal. **Poultry Science**, v.85, p.1430–1432, 2006.

HUSSEIN, S.H. *et al.* Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, p.1454-1456, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. 3º Prognóstico da produção Agrícola nacional, para 2010, dos principais produtos agrícolas. **Disponível em:** <http://www.ibge.org.br>. Acesso em: 18/10/2010.

IMAGEJ®. Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA. **Disponível em:** <<http://rsb.info.nih.gov/ij>>. Acesso em: 10/10/2009.

JACKSON, M.E., *et al.* A dose–response study with the feed enzyme  $\beta$ -mannanase in broilers provided with corn–soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters. **Poultry Science**, v.83, p.1992–1996, 2004.

JOHNSON, M.L., *et al.* Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.76, n.4, p.1112-1122, 1998.

KAKADE, M., *et al.* Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. **Journal of Nutrition**. 103: 1772-1778, 1973.

KIM, S.W., *et al.* Use of carbohydrases in corn-soybean meal based grower-finisher pig diets. **Animal Research**, v.55, p.563-578, 2006.

KITCHELL, R.L. Dogs know what they like. **Friskies Res. Digest**. v.8, p.1-4, 1972.

KOIDE, A., *et al.* Quantitative analysis of bowel gas using plain abdominal radiograph in patients with irritable bowel syndrome. **The American Journal of Gastroenterology**, v.95, n.7, p.1735-1741, 2000.

KUZMUK, K.N., *et al.* Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.135, p.1940–1945, 2005.

LAFLAMME, D.P. Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. **Veterinary Clinical Small Animal**, v.35, p. 713–742, 2005.

LEÃO, V.P.C., *et al.* Cinza insolúvel em ácido em ensaio de digestibilidade em ovinos alimentados com cana-de-açúcar e feno da parte aérea da mandioca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.480-487, 2008.

LEEDS, A.R., *et al.* The pig as a model for studies on the mode of action of guar gum in normal and diabetic man. **Proceedings of the nutrition society**, v.39, p.44, 980.

LEHNINGER, A.L., *et al.* **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995, 839p.

LEVESQUE, A. La gestation chez le chien et le chat. **Le Point Vétérinaire**, v.28, p.45-53, 1997.

LEWIS, L.D., *et al.* Stoll characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dog fed different fiber sources. **Journal of Nutrition**, v.124, p.2716S-2718S, 1994.

LI, Y., *et al.* Effects of  $\beta$ -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, p.59-67, 2010.

LIENER, I.E. Factors affecting the nutritional quality of soya products. **Journal of the American Oil Chemists' Society, Champaign**, v.58, p.406-415, 1981.

LIENER, I.E. Implication of anti-nutritional components in soybean foods. **Critical Review Food Science Nutrition**, v.34, p.31-67, 1994.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **Journal of Nutrition**, v.121, p.832-843, 1991.

LIN S. *et al.* Effects of lipids and processing conditions on degree of starch gelatinization of extruded dry pet food. **Lebens Wiss Technol**, v.30, p.754-61, 1997.

LIU, K. **Soybeans**: chemistry, technology, and utilization. New York: Chapman & Hall. 1997. 532p.

LOSSO, J. N. The biochemical and functional food properties of the Bowman-Birk inhibitor. **Critical Review Food Science Nutrition**, v.48, p.94-118, 2008.

LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **Journal of Nutrition**, v.125, p.573S-580S, 1995.

LOHSE, C.L. Preferences of dogs for various meats. **Journal of American animal hospital Assay**, v.10, p.187-192, 1974.

MATTERSON, L.D., *et al.* **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, 1965, 11p. (Research Report, 7)

MCCLEARY, B.V., MATHESON, N.K. Enzymic analysis of polysaccharide structure. **Advances in Carbohydrate Chemical Biochemistry**, v.44, p.147–176, 1986.

MENDES, W.S., *et al.* Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimentos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, p.207-213, 2004.

MEYER, B., SPIER, E. & NEUWELT, F. Basal secretion of digestive enzymes in old age. **Archives of Internal Medicine**, V. 65, p. 171-177, 1940.

MEYER, H.; SCHUNEMANN, C. Food composition and the preceacal and postileal digestibility of organic matter. **Fortschr. Tierphysiol. Tierernaehr**, v.19, p.14, 1989.

MITCHELL, H.H. **Nutritive factors in soybean products**. In: Soybeans and soybeans products, v.1, New York, Intercience publishers, INC., cap.10, p.383-409, 1951.

MURRAY, S.M., *et al.* Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets. **Journal of Animal Science**, v.79, n.9, p.2497-2505, 1997.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2006, 426p.

NAVARRO, G. Nuevos conceptos de la soya integral en la alimentación avícola. México, **Soya Noticia** (Asociacion Americana de Soya). n.226, p.1-5, 1992.

NEIRINK, K., *et al.* Amino acid composition and digestibility of four protein sources for dogs. **Journal Nutrition**, v.121, p.S64-S65, 1991.

NETO, G. Soja integral na alimentação de aves e suínos. **Avicultura Industrial**. São Paulo, n.988, p.4-15, 1992.

OAKENFULL, D.G. Physical properties of dietary fibre. In: Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective. (eds. S. Samman and G. Annison). **Nutrition Society Australian Occasional**, v.1, p.47–56, 1993.

PARSONS, C.M., *et al.* Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, v.79, p.1127–1131, 2000.

PAULSEN D.B., *et al.* Dimensions and histologic characteristics of the small intestine of dogs during postnatal development. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, p.618–626, 2003.

PEACHEY, S.E. Effect of ageing on resting energy expenditure in cats. **Veterinary Research**, v.144, 1999, 420p.

PERILLA, N.S., *et al.* Effect of temperature of wet extrusion on the nutritional value of full-fat soybeans for broiler chickens. **British Poultry Science**, v.38, p.412-416, 1997.

POND, W.G. *et al.* **Basic animal nutrition and feeding**. 4 ed., John Wiley, New York, p.531, 1995.

PURUSHOTHAM, B., *et al.* Effects of Steam Conditioning and Extrusion Temperature on Some Anti-nutritional Factors of Soybean (Glycine max) for Pet Food Applications. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v.2, n.1, p.1-5, 2007.

QUIGLEY, M.E., *et al.* Determination of resistant short-chain carbohydrates (non-digestible oligosaccharides) using gas-liquid chromatography. **Food Chemistry**, v.65, p.381–390, 1999.

RACKIS, J.J. **Biologically active components**. In: A. K. Smith and S. J. Circle (Ed.) Soybean Chemistry and Technology. Vol. I. Proteins, p.158-202. The AVI Publ. Co. Inc., Westport, CT, 1972.

RICKERT, D.K. What constitutes palatability? In: PET FOOD FORUM, 1995. Proceedings of Watt publishing Co: Chicago, Illinois, p.5-11, 1995.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.33, p.103–148, 1993.

ROSTAGNO, H.S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos** (composição de alimentos e exigências nutricionais). Viçosa, MG: UFV, 2005. 186p.

SAAD, F.M.O.B., *et al.* Curso de Pós-graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância – **Nutrição e Alimentação de Cães e Gatos**. UFLA/FAEPE, Lavras, p.129, 2005.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAKOMURA, N.K. **Estudo do valor nutricional das sojas integrais processadas e de sua utilização na alimentação de frangos e poedeiras**. Jaboticabal, 1996, 178p. Tese (Livre Docente) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SALE, J. K., *et al.* Chronic and acute studies indicating absence of exocrine pancreatic feedback inhibition in dogs. *Digestion* 15, 540-555, 1977.

SALES, J.; JANSSENS, G. The use of markers to determine energy metabolizability and nutrient digestibility in avian species. **World's Poultry Science**, v.59, p.314-327, 2003.



SAUER, W.C., *et al.* Methods for measuring ileal amino acid digestibility in pigs. In: D'Mello, J. P. F. (Ed.) **Farm Animal Metabolism and Nutrition**. CAB International, New York, p.279-306, 2000.

SCHEPPACH, W. *et al.* Effects of L-glutamine and *n*-butyrate on the restitution of rat colonic mucosa after acid induced injury. **Gastrointestinal tract**, v.38, p.878–885, 1996.

SCOTT, T.A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poultry Science**, v.76, p.594-598, 1997.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**; Propriedades, degradações, modificações. 1 ed. São Paulo: Livraria Varela. 1996, 517p.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. **Nutrition**. 16, 289–295, 2000.

SIMPSON, J.W. Diet and Large Intestinal Disease in dogs and cats. **Journal of Nutrition**. v.128, p.2717-2722, 1998.

SMIRICKY, M.R., *et al.* The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2433-2441, 2002.

SMIRICKY-TJARDES, M.R., *et al.* In vitro fermentation characteristics of selected oligosaccharides by swine fecal microflora. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2505-2514, 2003.

STEIN, R.B.S., *et al.* Estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca por meio de indicadores internos em eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.504-511, 2006.

STRICKLING, J.A. *et al.* Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.205–219, 2000.

STROMBECK, D.R., GUILFORD, W.G. **Small Animal Gastroenterology**, 2<sup>o</sup>ed, 1991, 774p.

STRUTHERS, B.J. *et al.* Effects on the Monkey, Pig and Rat Pancreas of Soy Products with Varying Levels of Trypsin Inhibitor and Comparison with the Administration of Cholecystokinin. **Journal of Nutrition**, v.113, p.86-97, 1983.

SUAREZ, F.L. *et al.* Gas production in humans ingesting a soybean flour derived from beans naturally low in oligosaccharides. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.135–139, 1999.

SWANSON, K.S., *et al.* Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite

concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3721–3731, 2002

SWANSON, K.S., *et al.* Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1713–1724, 2004.

TAYLOR, E.J., *et al.* Some nutritional aspects of ageing in dogs and cats. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.54, p.645-656, 1995.

THONNEY, M.L. *et al.* Sources of variations of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p.661-668, 1985.

TWOMEY, L.N., *et al.* The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. *Animal Feed Science and Technology*, v.108, p.61-69, 2003.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2009. National Nutrient Database for Standard Reference. **Disponível em:** <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR18/sr18.html>>. **Acesso em:** 18/09/2010.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B.A. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v.44, p.282-287, 1977.

VILLAMIDE, M.J. Methods of energy evaluation of feed ingredients for rabbits and their accuracy. **Animal feed Science and Technology**, 57: 211- 23, 1996.

VILLAMIDE, M.J., *et al.* **Feed Evaluation**. In: De Blas, C. & Wiseman, J. (Eds.), *The nutrition of the rabbit*, CAB Publishing, p.80-101, 1998.

WALDROUP, P.W. Whole soybeans for poultry feed. **World's Poultry Science Journal**, v.38, n.1, p.28-35, 1982.

WEBER, M., *et al.* Influence of age and body size on the digestibility of a dry expanded diet in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.87, p.21–31, 2003.

WEBSTER, M.J., *et al.* Evaluating processing temperature and feeding value of extruded-expressed soybean meal on nursery and finishing pig growth performance. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2032-2040, 2003.

WIERNUSZ, C.J., *et al.* Canine nutrient digestibility and quality evaluation of canned diets containing various soy supplements. **Veterinary Clinical Nutrition**, v.2, p.49:56, 1995.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of soybean meal in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.121–132, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of lowoligosaccharide and low-oligosaccharide low-phytate whole soyabeans in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.79–91, 2005.

YAMKA, R.M., *et al.* In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, p.88–94, 2006.

YU, B; CHUNG, T.K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meal diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, n.2, p.178-182, 2004.

ZEOULA, L.M., *et al.* Utilização de cinza insolúvel em ácido, óxido crômico e celulose em estudos de digestão. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.1, p. 73-82, 1992.

ZHANG, Q., *et al.* Cloning, sequence analysis, and heterologous expression of  $\beta$ -mannanase gene from *Bacillus subtilis* Z-2. **Molecular Biology**, v.40, p.368–374, 2006.

ZHAO, X.T., *et al.* Intestinal transit and absorption of soy protein in dogs depend on load and degree of protein hydrolysis. **The Journal of Nutrition**. v.127, p.2350–2356, 1997.

ZOU, X.T. *et al.* Effect of  $\beta$ -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. **Poultry Science**, v.85, p.2176–2179, 2006.

ZUO, Y., *et al.* Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

## **CAPÍTULO II - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DERIVADOS PROTÉICOS DE SOJA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA CÃES**

### **Resumo**

Realizou-se este estudo com o objetivo de analisar a composição bromatológica de derivados protéicos de soja, bem como as características físico-químicas dos extrusados formados a partir destes. Foram formuladas seis dietas para cães, uma referência e cinco contendo 30% de derivados de soja (farinha desengordurada - FDS, micronizada, farelo, grão integral e grão tostado), as quais foram extrusadas. Os derivados de soja e as dietas foram submetidos a análises bromatológicas e de qualidade do processamento. A FDS e o farelo de soja apresentaram os maiores teores de proteína bruta, enquanto os grãos de soja integral e tostado e a soja micronizada apresentaram os maiores teores de extrato etéreo em hidrólise ácida e energia bruta. A soja grão integral apresentou a maior atividade ureásica e inibitória de tripsina, mesmo após a extrusão da dieta. Os extrusados contendo as sojas grão e micronizada apresentaram as maiores densidades e as menores durezas, índice de absorção de água e grau de gelatinização do amido. Derivados protéicos de soja apresentam alto valor nutricional, entretanto, devem ser termicamente processados antes da extrusão para completa inativação do inibidor de tripsina. Além do mais, derivados contendo alto teor de lipídeos, como soja grão e micronizada, quando adicionados em 30% da fórmula comprometem a qualidade do extrusado.

Palavras-chave: Extrusão. Farelo de soja. Inibidor de tripsina. Soja micronizada.

### **PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOY-PROTEIN DERIVED IN EXTRUDED DOG FOODS**

#### **Abstract**

This study aimed at analyzing the chemical composition of different soy-protein products, as well the characteristics of the extruded produced. They were formulated six dog foods, a reference and five with 30% of one soy product (defatted soy flour - DSF, micronized, soybean meal, crude grain or toasted grain), which were extruded. Soy products and diets were submitted to chemical analyses and process quality. The DSF and soybean meal presented the highest crude protein content, while the toasted and crude soybeans and micronized soy presented the highest acid hydrolyses ether extract and crude energy content. The crude soybean presented the highest ureatic activity and trypsin inhibitor activity, even after extrusion of the diet. The extruded with soy beans and micronized soy presented the highest density and the lowest hardness, water absorption index and starch gelatinization degree. Soy-protein products present high nutritional value, however they should be heated before extrusion to complete inhibition of trypsin inhibitor. Besides, soy products with high fat content, as soybean and micronized soybean, when added 30% in diet reduce extruded quality.

Keywords: Extrusion. Micronized soybean. Soybean meal. Trypsin inhibitor

## 1. Introdução

O conhecimento do valor nutricional dos ingredientes é indispensável para a formulação de dietas balanceadas. Dentre os ingredientes protéicos vegetais utilizados na alimentação animal, destaca-se o farelo de soja, sendo o derivado de soja mais empregado em alimentos completos extrusados para cães, compondo entre 5 a 20% da fórmula. Entretanto, devido à alta demanda por farelo de soja, principalmente para alimentação de aves e suínos, a aquisição deste ingrediente está se tornando cada vez mais onerosa e difícil. Uma alternativa seria o grão de soja, que apresenta altos teores de proteínas (35,0 a 37,0%) e lipídeos (17,0 a 18,0%) (Bellaver et al., 2002), tornando-o vantajosa fonte de proteínas e energia para as dietas.

No entanto, para o uso da soja na alimentação de monogástricos é necessário que esta seja termicamente processada, com a finalidade de desativar os fatores antinutricionais presentes na soja integral, tais como lectinas e inibidores de tripsina e quimotripsina, que prejudicam a digestão protéica (Liener, 1994). Existem vários métodos de processamento térmico da soja para uso comercial, sendo o principal a tostagem. Entretanto, é importante que o processamento da soja seja bem controlado, já que o subaquecimento ou superaquecimento podem reduzir o aproveitamento de seus nutrientes pelos animais (Mendes et al., 2004). O subprocessamento da soja pode não desativar completamente os inibidores de proteases e o superaquecimento pode resultar em desnaturação protéica excessiva e formação de complexos entre a lisina e carboidratos (reação de Maillard), reduzindo a disponibilidade de ambos (Heidenreich, 1994).

Desse modo, é possível que a extrusão de alimentos comerciais para cães já seja efetiva na inativação dos inibidores de proteases da soja, devido às altas temperaturas empregadas durante o processo (110-180°C), como já demonstrado por Purushotham et al. (2007), ao extrusar dietas para cães contendo 15% de inclusão de grão cru de soja. Entretanto, não foram encontrados estudos que avaliassem os efeitos de maiores níveis de inclusão do grão cru de soja sobre a desnaturação dos inibidores de proteases e a qualidade dos extrusados. Este fato é relevante, principalmente, ao se considerar que a extrusão de misturas com alto teor de lipídeos, em extrusora de rosca simples, pode prejudicar o processo e a qualidade dos extrusados formados (Lin et al., 1997). Em virtude do exposto,

realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a composição nutricional e as características físico-químicas de derivados protéicos de soja, bem como dos extrusados formados a partir destes.

## **2. Material e métodos**

### *2.1 Ingredientes e dietas experimentais*

Foram analisados cinco derivados protéicos de soja: farinha desengordurada de soja (FDS), soja micronizada, farelo de soja, soja grão integral e soja grão tostado, bem como uma dieta referência (Tabela 1) e cinco dietas contendo 70% da fórmula referência e 30% de um dos derivados protéicos de soja supracitados.

Para produção do farelo e farinha desengordurada, os grãos de soja passaram por rolos quebradores e foram separados da casca, a qual foi moída e tostada. A soja descascada passou pelo condicionador, laminação, extração de óleo, recuperação do solvente (hexano) e tostagem. Parte da casca foi reincorporada à soja tostada, produzindo o farelo de soja com 42% de proteína bruta. Para produção da farinha desengordurada, a soja laminada tostada (sem inclusão de casca) foi moída em moinho de rolos. O grão de soja tostado foi obtido por meio do aquecimento com ar seco à 120-125°C dos grãos de soja íntegros em tostador de túnel. Para a produção da soja micronizada, os grão de soja foram expostos à radiação infravermelha e ao vapor indireto à 165°C, durante 2 à 3 minutos, seguido por retirada da casca, floculação e moagem por moinho de rolos.

A soja grão integral e grão tostado foram previamente moídas em moinho de rolos a 2,5 mm, para maior homogeneidade com os demais ingredientes na mistura. Os ingredientes foram misturados em misturador vertical e posteriormente moídos a 1 mm em moinho de martelos e extrusados em extrusora de rosca simples com taxa de alimentação de 1890 à 2000 kg/hora e adição de água e temperatura do pré-condicionador médias de, respectivamente, 325L/h e 83,5°C (dietas com derivados de soja desengordurados) e, respectivamente, 396L/h e 96,0°C (dietas com derivados de soja não-desengordurados). Após extrusão, as dietas foram secas em secador horizontal à 100-110°C durante 20 minutos, aproximadamente e encaminhadas para recobrimento com gordura industrial e, após resfriamento, recobertas com hidrolisado de fígado de frango.

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência.

Ingredientes (%)	
Milho	59,08
Farinha de vísceras de frango	26,14
Glúten de milho 60	5,71
Óleo de frango	5,00
Hidrolizado de frango	1,86
Propionato de cálcio	0,17
Sorbato de potássio	0,03
Suplemento mineral-vitamínico <sup>1</sup>	1,30
Cloreto de sódio	0,71
Total	100,00
Composição química (% na matéria seca)	
Matéria seca	90,97
Proteína bruta	24,62
Extrato etéreo hidrólise ácida	11,01
Fibra bruta	1,35
Fibra em detergente neutro	8,55
Fibra em detergente ácido	2,39
Matéria mineral	7,00
Cálcio	1,43
Fósforo total	1,02
Extrativos não nitrogenados <sup>2</sup>	56,00
Energia metabolizável (kcal/kg) <sup>3</sup>	4.020,25

<sup>1</sup>Enriquecimento.kg de alimento<sup>-1</sup>: Vit. A – 20000 UI; Vit. D3 – 2000 UI; Vit. E – 480 UI; Vit. K3 - 48 mg; Vit. B1 - 4 mg; Vit. B2 – 32 mg; B12 – 0,2mg; Ácido Pantotênico – 16 mg; Niacina – 56 mg; Colina – 800 mg; Zinco – 150 mg; Ferro – 100 mg; Cobre – 15 mg; Iodo – 1,5 mg; Manganês – 30 mg; Selenio – 0,2 mg e antioxidante 240 mg.

<sup>2</sup>ENN (%) = 100 – (MM% + PB% + EEA% + FB%), na matéria seca.

<sup>3</sup>Estimado segundo o NRC (2006)

## 2.2 Análises laboratoriais

Os derivados protéicos de soja e a dieta referência foram moídos a 0,5 mm e analisados quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA), fibra bruta (FB), cálcio (Ca), fósforo (P) e matéria mineral (MM), segundo a AOAC (1995), fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente

ácido (FDA) segundo Silva & Queiroz (2002) e energia bruta (EB), em bomba calorimétrica. Os extrativos não nitrogenados (ENN) foram estimados por:  $100 - (\text{umidade}\% + \text{PB}\% + \text{EEA}\% + \text{FB}\% + \text{MM}\%)$ .

Nos derivados protéicos de soja, rações fareladas e extrusadas foram determinados a atividade inibitória de tripsina (Genovese e Lajolo, 1998), atividade ureásica e índice de proteína dispersível (IPD), segundo a American Oil Chemists Society (1980a,b) e a proteína solúvel em KOH 0,2% (Araba e Dale, 1990). Nas rações extrusadas foram determinados o índice de absorção de água (IAA), segundo Holay & Harper (1982), grau de gelatinização do amido (Chiang & Johnson, 1977), densidade na saída da extrusora e dureza, em durômetro eletrônico. Todas as análises foram realizadas em triplicata e repetidas quando variaram mais de 5%.

### *2.3 Análise estatística*

Foi realizada análise de correlação entre o teor de extrato etéreo em hidrólise ácida da ração e as características físicas do extrusado no pacote estatístico SAS (1996). Os dados foram apresentados por meio de estatística descritiva.

## **3. Resultados**

A composição química dos derivados protéicos de soja estão apresentados na Tabela 2. A FDS e o farelo de soja apresentaram os maiores teores de PB, enquanto os grãos de soja integral e tostado e a soja micronizada apresentaram os maiores teores de EEA e EB.



Tabela 2. Composição química de derivados protéicos da soja na matéria natural.

(%)	FDS	Micronizada	Farelo	Grão tostado	Grão integral
MS	93,9	95,7	89,2	89,7	90,0
PB	49,2	39,0	41,7	33,7	33,8
EEA	2,4	20,6	3,7	21,0	20,8
MM	5,7	4,5	5,4	4,4	4,4
FB	1,5	1,4	4,7	3,7	3,6
FDN	8,4	13,3	13,1	9,5	9,4
FDA	3,3	4,1	6,7	8,4	8,2
ENN	35,1	30,2	33,6	27,0	27,3
Ca	0,4	0,2	0,4	0,3	0,3
P	0,8	0,6	0,5	0,5	0,5
EB (kcal/kg)	4383,5	5528,2	4209,7	5068,9	5103,8

FDS: Farinha desengordurada de soja; MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo hidrólise ácida; MM: matéria mineral; FB: fibra bruta; FDN: fibra em detergente neutro FDA: fibra em detergente ácido; ENN: extrativos não nitrogenados; EB: energia bruta.

A soja grão integral apresentou a maior atividade ureásica e inibitória de tripsina, maior solubilidade da proteína em KOH e maior IPD (Tabela 3). Os demais derivados apresentaram valores de urease abaixo de 0,04 de  $\Delta$ pH e valores intermediários de proteína solúvel em KOH, com exceção da soja micronizada e da FDS, que apresentaram solubilidade protéica acima de 85%.

As características físicas avaliadas apresentaram alta correlação com o teor de lipídeos da ração ( $P < 0,05$ ) (Tabela 4). Os extrusados contendo as sojas grão e micronizada apresentaram as maiores densidades, menores durezas, menores IAA e menores graus de gelatinização do amido (Tabela 3).

Tabela 3. Características físico-químicas de derivados protéicos de soja e das rações fareladas e extrusadas.

Variáveis		REF	FDS	SM	FS	SGT	SGI
		Ingredientes					
Urease	$\Delta$ pH	-	0,22	0,04	0,05	0,07	1,74
Inibidor de tripsina	UIT	-	9,0	6,6	6,6	3,1	45,1
Proteína solúvel	%	-	87,4	89,6	82,2	82,4	97,9
IPD	%	-	8,56	13,03	10,74	10,31	44,24
		Rações fareladas contendo 30% do ingrediente					
Urease	$\Delta$ pH	0,0	0,10	0,03	0,05	0,06	1,16
Inibidor de tripsina	UIT	0,0	3,2	2,2	3,5	1,4	15,8
		Rações extrusadas contendo 30% do ingrediente					
Urease	$\Delta$ pH	0,00	0,04	0,00	0,03	0,01	0,03
Inibidor de tripsina	UIT	0,00	1,7	2,2	2,0	1,5	4,1
IAA	%	481	485	455	478	406	418
Densidade	g/L	449	433	498	467	518	491
Dureza	kgf	10,78	9,51	8,21	9,92	8,38	8,75
GGA	%	90,0	90,0	68,0	90,0	68,0	66,0

REF: ração referência; FDS: Farinha desengordurada de soja; SM: Soja micronizada; FS: Farelo de soja; SGT: Soja grão tostado; SGI: Soja grão integral. UIT: unidades inibitórias de tripsina. IPD: índice de proteína dispersível; IAA: Índice de absorção de água; GGA: Grau de gelatinização do amido.

Tabela 4. Correlação entre o teor de extrato etéreo em hidrólise ácida da ração e as características físicas do extrusado.

	GGA	IAA	Dureza	Densidade
EEA	-0,97	-0,92	-0,84	0,93
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

IAA: Índice de absorção de água; GGA: Grau de gelatinização do amido; P: probabilidade

#### 4. Discussão

No presente estudo, os derivados de soja avaliados apresentaram composição química próxima à descrita por Mendes et al. (2004) e Rostagno et al. (2005). O fato da soja grão integral ter apresentado a maior atividade ureásica, inibitória de tripsina e a maior solubilidade da proteína em KOH e IPD (Tabela 3), comprova a presença de inibidores de proteases ativos no grão, características estas inerentes a sojas não processadas. Os demais derivados apresentaram valores considerados dentro do ideal de urease (abaixo de 0,20ΔpH, Butolo, 2002) e proteína solúvel em KOH (70-85%, Araba & Dale, 1990) para sojas termicamente tratadas, com exceção da soja micronizada e da FDS, que apresentaram solubilidade protéica acima de 85%.

Os valores encontrados no presente estudo para a soja crua corroboram com os relatados por Purushotham et al. (2007), os quais encontraram atividade ureásica de 2,0 ΔpH e inibidor de tripsina de 51 UIT para o grão cru de soja. Em relação à solubilidade protéica, Lusas & Riaz (1995) relatam que sojas cruas apresentam IPD em torno de 40 a 90%. Já, a solubilidade da proteína da soja crua em KOH é próxima de 100% (Silveira & Souza, 2007). A insolubilização da proteína durante o aquecimento da soja ocorre, principalmente, devido à polimerização protéica decorrida da reação de troca de pontes dissulfeto intermoleculares (Caprita & Caprita, 2010).

Dentre as rações extrusadas, a ração contendo 30% de grão integral de soja apresentou maior atividade inibitória de tripsina, mas não a maior atividade ureásica. Isso indica que o processo de extrusão da ração contendo 30% de soja grão integral não é suficiente para completa inativação dos inibidores de proteases do grão. Além disso, apesar da determinação da urease ser um método mais prático e barato que a análise de inibidor de tripsina, não apresenta exatidão sobre a presença de inibidores de proteases, uma vez que os valores encontrados de urease nas rações extrusadas se mantiveram abaixo de 0,20ΔpH. Isso demonstra que a urease é uma enzima mais sensível à temperatura que o inibidor de tripsina, fato este também constatado por Purushotham et al. (2007).

Hipotetiza-se que a incompleta inativação do inibidor de tripsina seja devido ao curto tempo de permanência da ração no canhão da extrusora (aproximadamente 30 a 60 segundos) e principalmente devido ao alto teor de óleo da mistura farelada

contendo a soja grão integral, o que limita o aumento da pressão e temperatura da massa, devido ao efeito lubrificante do óleo.

De acordo com Genovese & Lajolo (1998), valores residuais de atividade inibitória de tripsina podem ser indicativos de inibição inespecífica, como interferência do fitato presente na soja, o qual pode complexar o cálcio do tampão utilizado no método. Segundo os autores, o cálcio é um co-fator da tripsina e a sua complexação diminuiria a atividade desta, simulando a ação dos inibidores. Esse fato é uma possível justificativa para os valores de atividade inibitória de tripsina abaixo de 2,0 UIT encontrados no presente estudo para as rações extrusadas contendo os derivados de soja desativados.

Apesar dos resultados obtidos no presente estudo, Purushotham et al. (2007) relataram inativação eficiente (<2,0 UIT) do inibidor de tripsina ao extrusar uma fórmula de alimento completo para cães contendo 15% de soja crua entre 125-140°C. Embora os autores não tenham apresentado o teor de extrato etéreo da fórmula extrusada, é provável que o menor nível de inclusão do grão de soja utilizado não tenha contribuído para o aumento excessivo do teor de lipídeos da mistura, como no presente estudo, não comprometendo a pressão e temperatura da massa no interior do canhão.

O efeito adverso de altos teores de lipídeos sobre o processo de extrusão em rosca simples também pode ter influenciado sobre as características físicas avaliadas nos extrusados (Tabela 3), as quais apresentaram alta correlação com o teor de lipídeos da ração (Tabela 4). Os extrusados contendo as sojas grão e micronizada apresentaram as maiores densidades, menores durezas, menores IAA e menores graus de gelatinização do amido. Indicando que o elevado teor de lipídeos desses derivados pode ter prejudicado a gelatinização do amido e, por conseguinte, resultado em extrusados menos expandidos e de menor durabilidade. O teor de extrato etéreo em hidrólise ácida das misturas fareladas contendo 30% de soja grão tostado foi de 10,8%; soja grão integral: 10,9%; soja micronizada: 9,9%; farelo de soja: 6,7% e FDS: 5,2%. Desse modo, é provável que teores de EEA acima de 6,7% da mistura farelada comprometam o processo de extrusão em rosca simples.

Resultados semelhantes foram descritos por Lin et al. (1997), os quais avaliando a adição de lipídeos sobre o processo de extrusão, observaram redução de 100 a 55% no grau de gelatinização do amido em rações extrusadas contendo 0

a 7,5% de extrato etéreo, respectivamente. Segundo os autores a adição de lipídeos durante a extrusão pode comprometer a gelatinização do amido, devido ao efeito lubrificante do óleo, diminuindo a pressão de cisalhamento no canhão da extrusora e dificultando a absorção de água pelos grânulos de amido.

Derivados protéicos de soja apresentam bom perfil nutricional para serem utilizados em alimentos para cães como fonte protéica (farelo, farinha desengordurada, soja micronizada e grão tostado) e energética (grão de soja tostado e soja micronizada), ponderando as necessidades nutricionais de proteínas e lipídeos reportadas pelo NRC (2006) para esses animais. Além disso, uma vez associadas às farinhas de origem animal, permitem fornecimento dos níveis protéicos desejados, ao mesmo tempo em que moderam os níveis de macrominerais (principalmente cálcio) nas formulações, pois possuem alta relação proteína bruta: matéria mineral, ao contrário das farinhas de origem animal. Entretanto, os derivados de soja com alto teor de lipídeos, inclusos em 30% na formulação, devem ser termicamente tratados antes da extrusão em rosca simples, para completa inativação do inibidor de tripsina.

Cabe ressaltar ainda que, a determinação da urease, por ser uma enzima inativada em temperaturas menores que o inibidor de tripsina (Purushotham et al., 2007) e se tratar de um método não linear, deve ser utilizada com cautela na prática, para se evitar o uso de alimentos com inibidores de proteases ativos na nutrição animal. A não linearidade desse método pode ser observada, por exemplo, na redução não proporcional da variação de pH entre os ingredientes e as rações fareladas contendo 30% do derivado de soja (redução de 0% a 54%, em relação à atividade medida no ingrediente). Em contrapartida, a atividade inibitória de tripsina foi reduzida com maior proporcionalidade frente à diluição de 70% do fator antitriptico nas rações fareladas contendo 30% dos derivados de soja (redução de 67% a 55%, em relação à atividade medida no ingrediente).

## **5. Conclusões**

Derivados protéicos de soja apresentam alto teor protéico, podendo ser, também, fontes energéticas quando não desengordurados. O processo de extrusão em rosca simples não é suficiente para completa inativação do inibidor de tripsina

em formulação contendo 30% de grão cru de soja. A análise da atividade ureásica apresenta menor sensibilidade, que a determinação da atividade inibitória de tripsina, para aferição da presença de inibidores de proteases em derivados de soja e rações extrusadas. Misturas fareladas com teor de lipídios acima de 7% comprometem a qualidade do extrusado processado em extrusora de rosca simples.

## 6. Referências

- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Urease Activity. Official Method Ba 9-58. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980a.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Protein Dispersibility Index. Official Method Ba 10-65. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980b.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.
- ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of KOH solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poultry Science**, v.69, p.76–83, 1990.
- BELLAVER, C.; COTREFAL, G.; GRECCO, M. Soja integral: processamento e uso. **Aliment. Anim.**, v.7, p.28-30, 2002.
- BUTOLO, J.E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. 1ªed. Campinas: CBNA, 2002, 430p.
- CAPRITA, A.; CAPRITA, R. Modification of the soluble protein content of heat-processed soybean flour. **Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj**. v.38, n.2, p.98-101, 2010.
- CHIANG, B.Y.; JOHNSON, J.A. Measurement of total and gelatinized starch by glucoamylase and o-toluidine reagent. **Cereal Chemistry**, v.54, p.429–435, 1977.
- GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, p.309-312, 1998.
- HEIDENREICH, E. Operation strategies for expansion cooking. **Feed Mix**. v.2, p.32-34, 1994.
- HOLAY, S.H., HARPER, J.M. Influence of extrusion shear environment on plant texturization. **Journal Food Science**, v.47, n.6, p. 1869-1874, 1982.
- LIENER, I.E. Implication of anti-nutritional components in soybean foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr**. v.34, p.31-67, 1994.

LIN S. *et al.* Effects of lipids and processing conditions on degree of starch gelatinization of extruded dry pet food. **Lebens Wiss Technol**, v.30, p.754-61, 1997.

LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **Journal of Nutrition** v.125, p.573S-580S, 1995.

MENDES, W. S., *et al.* Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.56, p.207-213, 2004.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL, NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press. Washington, DC, USA, 2006.

PURUSHOTHAM, B. *et al.* Effects of Steam Conditioning and Extrusion Temperature on Some Anti-nutritional Factors of Soyabean (*Glycine max*) for Pet Food Applications. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**. v.2, n.1, p.1-5, 2007.

ROSTAGNO, H.S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos** (composição de alimentos e exigências nutricionais). Viçosa, MG: UFV, 2005. 186p.

SAS - **Statistical Analysis System**: users guide. Cary, NC, 1996. 584p

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, 235p.

SILVEIRA, C.O.; SOUZA, C.F.V. Variações do método de quantificação da proteína solúvel em soja desativada utilizada na alimentação animal. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.1, n.2, p.117-127, 2007.

## **CAPÍTULO III - VALOR NUTRICIONAL DA SOJA CRUA SUBMETIDA A DIFERENTES PROCESSAMENTOS PARA CÃES ADULTOS E FILHOTES**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar a digestibilidade (CDA), energia metabolizável (EM) e características das fezes de cães adultos e filhotes alimentados com soja crua e seus derivados. Foram formuladas seis dietas, sendo uma referência (REF) e cinco contendo 30% de um derivado da soja (farinha desengordurada - FDS, micronizada - SM, farelo - FS, grão cru - SGC e grão tostado - SGT), as quais foram extrusadas. Foram utilizados seis cães adultos (5,8 anos) e seis filhotes (5,1 meses) distribuídos em quadrado latino duplo (6x6). Houve redução na urease de todas as dietas após a extrusão, entretanto, o inibidor de tripsina (IT) foi reduzido apenas nas dietas contendo FS, FDS e SGC. Os CDA da PB da FDS, FS, SM, SGT e SGC foram, respectivamente, 85,1; 85,2; 88,4; 84,7 e 78,9% para os cães adultos. O FS e a FDS apresentaram os menores CDA do extrato etéreo (EEA). Os filhotes e os adultos só diferiram quanto aos CDA do EE, com valores superiores para os filhotes. A SM apresentou a maior EM (5112,4 kcal/kg) e a FDS a menor (3639,1 kcal/kg). As fezes dos cães consumindo derivados da soja foram menos consistentes, de menor pH e amônia que as da dieta REF, com exceção da SGC, que também resultou no maior teor de amônia. Derivados da soja são boas fontes protéicas para cães adultos e filhotes, desde que termicamente tratados antes da extrusão.

Palavras-chave: Farelo de soja. Idade cães. Inibidor de tripsina. Soja micronizada.

### **NUTRITIONAL VALUE OF RAW SOYBEANS SUBMITTED TO DIFFERENT PROCESSING TREATMENTS FED TO ADULT DOGS AND PUPPIES**

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the digestibility (ADC), metabolizable energy (ME) and fecal characteristics of adult and young dogs fed raw soybeans and its byproducts. Six diets were formulated, a reference (REF) and five with 30% of a soybean product (defatted flour - DSF, micronized - MS, meal - SBM, raw beans - SRB and toasted beans - STB), which were extruded. Six adult dogs (5.8 years old) and six puppies (5.1 months old) were distributed in a double Latin square (6x6) design. Urease was reduced in all diets after extrusion, but trypsin inhibitor (TI) was reduced only in the diets containing SBM, DSF and SRB. The ADC of CP of DSF, SBM, MS, STB and SRB were, respectively: 85.1, 85.2, 88.4, 84.7 and 78.9% for adult dogs. The SBM and DSF had the lowest ADC of ether extract (AEE). Pups and adults only differed in the ADC of AEE, with higher values for the puppies. The MS had the highest ME (5112.4 kcal/kg) and DSF, the lowest (3639.1 kcal/kg). The stools of dogs consuming soy products were less consistent, with lower pH and ammonia level than the REF diet, except for the SRB, which also resulted in higher ammonia levels. Soy products are good protein sources both for adult and growing dogs, provided they are submitted to heat treatment before diet extrusion.

Keywords: Aged dogs. Micronized soybean. Soybean meal. Trypsin inhibitor.



## 1. Introdução

A maioria dos ensaios de metabolismo realizados em cães avalia o efeito da inclusão do ingrediente na digestibilidade da dieta e não o ingrediente em particular. Logo, há escassez de informações específicas sobre a qualidade nutricional das matérias primas empregadas em dietas para cães, principalmente para cães filhotes.

Modificações morfofisiológicas e microbiológicas no sistema gastrintestinal ocorrem à medida que os animais envelhecem, afetando a digestibilidade (Fahey et al., 2008). Assim, embora sejam encontrados resultados conflitantes na literatura (Taylor et al., 1995; Weber et al., 2003; Swanson et al., 2004), é provável que, cães filhotes apresentem distinta capacidade de assimilação dos nutrientes dos alimentos, em relação aos animais adultos, devendo isso ser considerado em formulações específicas para esse estágio fisiológico.

Dentre os ingredientes protéicos utilizados em alimentos comerciais para cães adultos e filhotes, os derivados desengordurados de soja, como o farelo e a farinha e os derivados integrais de soja, como o grão tostado e a farinha micronizada, têm contribuído com proteína de alta digestibilidade (Clapper et al., 2001; Cavalari et al., 2006; Carciofi et al., 2009) e na redução dos níveis de macro minerais dos alimentos completos comerciais. O farelo de soja é o derivado mais empregado em alimentos secos extrusados, compondo entre 5 a 30% da fórmula. Porém, devido à sua alta demanda, principalmente para a alimentação de aves e suínos, a aquisição deste ingrediente está se tornando cada vez mais onerosa e difícil. Uma alternativa ao farelo seria o grão de soja, que apresenta altos teores de proteínas (33% a 38%) e lipídios (18% a 22%), tornando-o vantajosa fonte protéica e energética.

No entanto, para o uso da soja na alimentação de monogástricos é necessário que esta seja termicamente processada, com a finalidade de desativar os fatores antinutricionais presentes no grão integral. Dentre esses fatores, o inibidor de tripsina é considerado o mais importante, devido ao seu efeito deletério sobre a digestão protéica (Rackis, 1972). Existem vários métodos de processamento térmico da soja para uso comercial, sendo o principal a tostagem. Porém, é importante que o processamento da soja seja bem controlado, já que o subaquecimento ou superaquecimento podem reduzir o aproveitamento de seus nutrientes pelos animais.

Desse modo, é possível que a extrusão de alimentos comerciais para cães já seja efetiva na inativação dos inibidores de proteases da soja, devido às altas temperaturas empregadas durante o processo (110-180°C), como já demonstrado por Purushotham et al. (2007). Além disso, a extrusão de fórmulas contendo derivados de soja termicamente tratados, como ocorre comercialmente, pode estar superaquecendo esses ingredientes, por submetê-los a um segundo processo térmico, comprometendo a disponibilidade de seus aminoácidos aos animais. Assim, considerando a escassez de informações sobre o efeito do processamento sobre o valor nutricional da soja para cães, objetivou-se avaliar a atividade inibitória de tripsina, digestibilidade e energia metabolizável do grão de soja e seus derivados para cães adultos e filhotes, bem como as características das fezes produzidas.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Animais e instalações**

Foram utilizados 12 cães da raça Beagle, sendo seis adultos ( $5,8 \pm 0,1$  anos) e seis cães filhotes ( $5,1 \pm 0,2$  meses), três machos e três fêmeas de cada idade, saudáveis, vacinados e desverminados, com pesos médios de, respectivamente,  $13,4 \pm 1,7$  kg e  $5,6 \pm 0,4$  kg.

Durante o ensaio de digestibilidade os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável medindo 0,7 m de comprimento x 0,6 m de altura x 0,5 m de largura. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética ao Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

### **2.2 Dietas**

Foram avaliadas uma dieta referência (Tabela 1) e cinco dietas teste compostas por 70% da fórmula da dieta referência e 30% de inclusão de farelo de soja, soja grão cru, soja grão tostado, soja micronizada ou farinha desengordurada de soja. A dieta referência foi formulada excedendo o perfil nutricional para cães em crescimento recomendado pela AAFCO (2004). A composição química e os parâmetros qualitativos dos derivados protéicos de soja utilizados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência.

Ingredientes (%)	
Milho	59,08
Farinha de vísceras de frango	26,14
Glúten de milho 60	5,71
Óleo de frango	5,00
Hidrolizado de frango	1,86
Propionato de cálcio	0,17
Sorbato de potássio	0,03
Suplemento mineral-vitamínico <sup>1</sup>	1,30
Cloreto de sódio	0,71
Total	100,00
Composição química (% na matéria seca)	
Matéria seca	90,97
Proteína bruta	24,62
Extrato etéreo hidrólise ácida	11,01
Fibra bruta	1,35
Matéria mineral	7,00
Cálcio	1,43
Fósforo total	1,02
Extrativos não nitrogenados <sup>2</sup>	56,00
Energia metabolizável (kcal/kg) <sup>3</sup>	4.020,25

<sup>1</sup>Enriquecimento.kg de alimento<sup>-1</sup>: Vit. A – 20000 UI; Vit. D3 – 2000 UI; Vit. E – 480 UI; Vit. K3 - 48 mg; Vit. B1 - 4 mg; Vit. B2 – 32 mg; B12 – 0,2mg; Ácido Pantotênico – 16 mg; Niacina – 56 mg; Colina – 800 mg; Zinco – 150 mg; Ferro – 100 mg; Cobre – 15 mg; Iodo – 1,5 mg; Manganês – 30 mg; Selenio – 0,2 mg e antioxidante 240 mg.

<sup>2</sup>Estimado por: ENN (%) = 100 – (MM% + PB% + EEA% + FB%), na matéria seca.

<sup>3</sup>Estimado segundo o NRC (2006)

Tabela 2. Composição química (expressa na matéria seca) e parâmetros qualitativos dos derivados protéicos da soja.

(%)	FDS	FS	SM	SGT	SGC
Umidade	6,1	10,8	4,3	10,3	10,0
Proteína bruta	52,4	46,7	40,8	37,6	37,6
Extrato etéreo hidrólise ácida	2,6	4,1	21,5	23,4	23,1
Matéria mineral	6,1	6,1	4,7	4,9	4,9
Fibra bruta	1,6	5,3	1,5	4,1	4,0
Fibra em detergente neutro	8,9	14,7	13,9	10,6	10,4
Fibra em detergente ácido	3,5	7,5	4,3	9,4	9,1
Extrativos não-nitrogenados	37,4	37,7	31,6	30,1	30,3
Cálcio	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3
Fósforo	0,9	0,6	0,6	0,6	0,6
Energia bruta (kcal/kg)	4668,3	4818,6	5776,6	5684,4	5670,9
Parâmetros qualitativos					
Urease ( $\Delta$ pH)	0,22	0,05	0,04	0,07	1,74
Inibidor de tripsina (mg/g)	9,0	6,6	6,6	3,1	45,1
Índice de proteína dispersível (%)	8,56	10,74	13,03	10,31	54,24

Para produção do farelo e farinha desengordurada, os grãos de soja passaram por rolos quebradores e foram separados da casca, a qual foi moída e tostada. A soja descascada passou pelo condicionador, laminação, extração de óleo, recuperação do solvente (hexano) e tostagem. Parte da casca foi incorporada à soja tostada, produzindo o farelo de soja com 42% de proteína bruta. Para produção da farinha desengordurada, a soja laminada tostada (sem inclusão de casca) foi moída em moinho de rolos. O grão de soja tostado foi obtido por meio do aquecimento com ar seco à 120-125°C dos grãos de soja íntegros em tostador de túnel. Para a produção da soja micronizada, os grão de soja foram expostos à radiação infravermelha e ao vapor indireto à 165°C, durante 2 à 3 minutos, seguido por retirada da casca, floculação e moagem por moinho de rolos.

A soja grão integral e grão tostado foram previamente moídos em moinho de rolos a 2,5 mm. Os ingredientes foram misturados em misturador vertical e posteriormente moídos a 1 mm em moinho de martelos e extrusados em extrusora de rosca simples (*Ferraz, E-130, Ribeirão Preto, Brasil*), com capacidade de 2 t/hora.

Os parâmetros de extrusão foram controlados para manter as densidades dos extrusados na saída da extrusora entre 430 à 520 g/L. Após extrusão, as dietas foram secas em secador horizontal de tripla esteira durante 20 minutos à 100-110°C e foram recobertas com óleo de frango e, após resfriamento, foi aplicado palatilizante.

### *2.3 Digestibilidade*

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método da colheita total de fezes, considerando as recomendações da AAFCO (2004). As dietas foram oferecidas por um período de adaptação de cinco dias, seguidos por cinco dias de colheita de fezes, confeccionando uma mistura composta das fezes de cada animal. As fezes foram colhidas e pesadas duas vezes ao dia e armazenados individualmente em freezer, para posteriores análises.

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia (7:30 e 16:30 horas) aos animais. As quantidades fornecidas foram calculadas para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) dos animais, segundo as equações preconizadas pelo NRC (2006) para cães adultos:  $NEM \text{ (kcal/dia)} = 130 \times \text{Peso corporal}^{0,75}$  e em crescimento:  $NEM \text{ (kcal/dia)} = 130 \times \text{Peso corporal}^{0,75} \times 3,2 \times (e^{-0,87p} - 0,1)$ , sendo  $p$  = peso atual/peso à maturidade. A água foi fornecida à vontade.

### *2.4 Características das fezes*

As fezes dos cães adultos e filhotes foram avaliadas a partir dos valores de matéria seca total nas fezes, produção de fezes, amônia (AOAC, 1995), escore e pH fecal (medido com pHmetro digital). O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se pontuação de 1 a 5: 1: fezes líquidas; 2: fezes pastosas e sem forma; 3: fezes úmidas, macias e formadas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas, secas e consistentes; 5: fezes duras e ressecadas, produzidas em pequenos pedaços. Para avaliação do pH e amônia fecal, foram utilizadas fezes colhidas no máximo 15 minutos após a excreção no 5º dia de coleta de fezes.

### *2.5 Análises laboratoriais*

Ao final do período de colheita, as fezes de cada repetição foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas separadamente. As fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante. As

dietas, ingredientes teste e fezes foram moídas a 1mm e submetidas às análises para determinação dos teores de matéria seca à 105°C (MS<sub>105</sub>), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA) e matéria mineral, segundo à AOAC (1995). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica. Os extrativos não-nitrogenados (ENN, %) foram estimados segundo a equação:  $100 - (\text{umidade}\% + \text{PB}\% + \text{EEA}\% + \text{FB}\% + \text{MM}\%)$  e a matéria seca original das fezes obtida por:  $(\text{MS}_{55} \times \text{MS}_{105})/100$ . Nos derivados de soja também foram analisados os teores de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, cálcio e fósforo (Silva & Queiroz, 2002), e nos derivados de soja e dietas a atividade ureásica e índice de proteína dispersível, conforme a AOCS (1980a,b) e a atividade inibitória de tripsina, segundo Genovese & Lajolo (1998).

## 2.6 Cálculos e Análise estatística

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB, EEA, MO e ENN da dieta referência (CD<sub>rr</sub>) e dos ingredientes teste (CD<sub>ing</sub>) pelo método da substituição proposto por Matterson et al. (1965), segundo as equações:

$$\text{CD}_{rr}\% = ((\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente ingerido}) \times 100$$

$$\text{CD}_{ing}\% = \text{CD}_{rr}\% + ((\text{CD}_{ra\tilde{c}\tilde{a}\tilde{o}} \text{ teste}\% - \text{CD}_{rr}\%) / (\% \text{Substituição ing}/100))$$

A energia metabolizável (EM) foi estimada de acordo com a AAFCO (2004):

$$\text{EM (kcal/g)} = \{\text{kcal/g EB ingerida} - \text{kcal/g EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25\text{kcal/g}]\} / \text{g ração ingerida}$$

A partir dos valores de composição química na matéria seca e dos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes foram calculados os valores dos nutrientes digestíveis (ND):

$$\text{ND (\%)} = [\% \text{ nutriente}/100] \times \text{CD}_{ing}$$

Os resultados dos ensaios de digestibilidade (com os cães adultos e filhotes) foram analisados segundo delineamento Quadrado Latino duplo 6 x 6 (tratamentos x períodos), em esquema fatorial 2 x 5 (idades x derivados de soja), para avaliação da digestibilidade e 2 x 6 (idades x dietas), para aferição das características das fezes. Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade (Shapiro-Willk) e quando atendida essa premissa foram analisados utilizando o procedimento GLM do

pacote estatístico SAS (1996). Os dados foram submetidos à Análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade. O escore fecal foi analisado pelo teste Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

### 3. Resultados

Na Tabela 3 estão apresentados os valores de atividade ureásica e inibitória de tripsina das dietas antes e após a extrusão. Houve redução na atividade ureásica de todas as dietas após a extrusão, entretanto, a atividade inibitória de tripsina foi reduzida apenas nas dietas contendo farelo, farinha desengordurada e grão cru de soja (Tabela 3).

Tabela 3. Atividades ureásica ( $\Delta$ pH) e inibitória de tripsina (mg/g) de dietas fareladas (FAR) e extrusadas (EXT) contendo 30% de derivados protéicos de soja.

Variáveis		REF	FDS	FS	SM	SGT	SGC
Urease	FAR	0,00	0,10	0,05	0,03	0,06	1,16
	EXT	0,00	0,04	0,03	0,00	0,01	0,03
Inibidor de tripsina	FAR	0,0	3,2	3,5	2,2	1,4	15,8
	EXT	0,0	1,7	2,0	2,2	1,5	4,1

REF: referência; FDS: farinha desengordurada de soja; FS: farelo de soja; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; SGC: soja grão cru.

Não foram observados episódios de rejeição à alimentação, vômito ou diarreia. O consumo de ração não diferiu entre os tratamentos e entre as idades ( $P>0,05$ ) (Tabela 4).

Houve interação entre a idade dos animais e os derivados de soja para os CDA da MS e EEA ( $P<0,05$ ) (Tabela 4). A soja micronizada apresentou o maior CDA da MS ( $P<0,05$ ) para os cães adultos e filhotes. Os demais derivados não diferiram entre si para os cães adultos, enquanto que, para os filhotes, o grão cru de soja teve a menor digestibilidade da MS ( $P<0,05$ ). O farelo e a farinha desengordurada de soja proporcionaram os menores CDA do EEA para as duas idades, sendo que cães filhotes apresentaram os CDA da MS e EEA desses ingredientes superiores aos dos adultos ( $P<0,05$ ) (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA), extrativos não-nitrogenados (ENN), energia bruta (EB) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de derivados protéicos de soja (DS) em cães de diferentes idades (I).

	I	Derivados de soja					EPM	Probabilidades		
		FDS	FS	SM	SGT	SGC		DS	I	DS x I
CMS	A	236	236	231	232	232	1,7	0,288	0,113	0,855
	F	249	249	243	244	244	2,3			
CDA										
MS	A	75,6 <sup>Bb</sup>	75,8 <sup>b</sup>	85,1 <sup>a</sup>	76,7 <sup>b</sup>	75,9 <sup>b</sup>	0,67	<0,001	<0,001	0,048
	F	78,3 <sup>Ab</sup>	77,3 <sup>b</sup>	85,0 <sup>a</sup>	78,4 <sup>b</sup>	75,6 <sup>c</sup>	0,58			
PB	A	85,1 <sup>b</sup>	85,2 <sup>b</sup>	88,4 <sup>a</sup>	84,7 <sup>b</sup>	78,9 <sup>c</sup>	0,50	<0,001	0,193	0,185
	F	84,8 <sup>b</sup>	85,2 <sup>b</sup>	87,4 <sup>a</sup>	84,5 <sup>b</sup>	76,4 <sup>c</sup>	0,64			
EEA	A	84,3 <sup>Bb</sup>	84,3 <sup>Bb</sup>	96,8 <sup>Ba</sup>	96,6 <sup>Ba</sup>	96,4 <sup>Ba</sup>	0,99	<0,001	<0,001	<0,001
	F	93,9 <sup>Ac</sup>	95,8 <sup>Ab</sup>	98,2 <sup>Aa</sup>	98,5 <sup>Aa</sup>	99,0 <sup>Aa</sup>	0,54			
ENN	A	92,7	92,7	94,8	93,8	93,0	0,43	<0,001	0,607	0,200
	F	93,9	92,4	94,1	92,2	92,4	0,57			
EB	A	79,8 <sup>b</sup>	79,7 <sup>b</sup>	88,8 <sup>a</sup>	81,7 <sup>b</sup>	79,6 <sup>b</sup>	0,66	<0,001	0,095	0,121
	F	81,3 <sup>b</sup>	80,1 <sup>b</sup>	87,8 <sup>a</sup>	82,4 <sup>b</sup>	78,6 <sup>b</sup>	0,81			
EM	A	3639,1 <sup>e</sup>	4071,9 <sup>d</sup>	5112,4 <sup>a</sup>	4585,4 <sup>b</sup>	4454,7 <sup>c</sup>	79,07	<0,001	0,071	0,162
	F	3716,9 <sup>e</sup>	4092,6 <sup>d</sup>	5066,9 <sup>a</sup>	4658,8 <sup>b</sup>	4407,5 <sup>c</sup>	76,48			

\*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

EPM: erro padrão da média. A: adulto; F: filhote

FDS: farinha desengordurada de soja; FS: farelo de soja; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; SGC: soja grão cru.

Os filhotes não diferiram dos cães adultos, quanto à digestibilidade da PB, ENN, EB e EM (P>0,05) (Tabela 4). A soja micronizada apresentou os maiores CDA da PB e EB nas idades avaliadas (P<0,05). Já, a PB do grão cru de soja foi a menos digestível (P<0,05). Os demais derivados de soja não diferiram entre si quanto à digestibilidade da PB e EB (P>0,05). Os CDAs dos ENN não diferiram entre os tratamentos (P>0,05). A EM dos derivados de soja decresceu na seguinte ordem: soja micronizada > grão de soja tostado > grão de soja cru > farelo de soja > farinha desengordurada de soja, para os cães adultos e filhotes (P<0,05) (Tabela 4).



A farinha desengordurada de soja apresentou o maior teor de proteína digestível e a soja micronizada o maior teor de energia digestível ( $P<0,05$ ) (Tabela 5). A soja micronizada e os grãos tostado e cru de soja obtiveram os maiores teores de extrato etéreo digestível para ambas as idades avaliadas ( $P<0,05$ ) (Tabela 5).

As características das fezes dos cães estão apresentadas na Tabela 6. Os cães alimentados com as dietas contendo derivados de soja produziram fezes em maior volume, com menor teor de matéria seca, escore e pH, que os alimentados com a dieta referência ( $P<0,05$ ). O teor de amônia nas fezes foi menor nos cães alimentados com os derivados de soja ( $P<0,05$ ), com exceção dos animais que consumiram a dieta contendo grão de soja cru, nos quais o teor de amônia fecal não diferiu do das fezes dos animais alimentados com a dieta referência ( $P>0,05$ ). Os cães filhotes produziram fezes com menor teor de matéria seca e escore e maior pH e teor de amônia, que os adultos ( $P<0,05$ ) (Tabela 6).

Tabela 5. Valores médios de proteína (PD), extrato etéreo em hidrólise ácida (EED) e energia (ED) digestíveis (expressos na matéria seca) de derivados protéicos de soja para cães adultos (A) e filhotes (F).

%	I	Derivados de soja					EPM	Probabilidades		
		FDS	FS	SM	SGT	SGC		D	I	D x I
PD	A	44,6 <sup>a</sup>	39,8 <sup>b</sup>	36,1 <sup>c</sup>	31,8 <sup>d</sup>	29,7 <sup>e</sup>	0,11	<0,001	0,897	0,923
	F	44,4 <sup>a</sup>	39,8 <sup>b</sup>	35,6 <sup>c</sup>	31,8 <sup>d</sup>	28,7 <sup>e</sup>	0,12			
EED	A	2,1 <sup>d</sup>	3,5 <sup>c</sup>	20,8 <sup>b</sup>	22,6 <sup>a</sup>	22,3 <sup>a</sup>	0,09	<0,001	0,356	0,423
	F	2,4 <sup>d</sup>	3,9 <sup>c</sup>	21,1 <sup>b</sup>	23,1 <sup>a</sup>	22,9 <sup>a</sup>	0,08			
ED	A	3725,3 <sup>e</sup>	4074,9 <sup>d</sup>	5129,8 <sup>a</sup>	4644,1 <sup>b</sup>	4514,0 <sup>c</sup>	70,22	<0,001	0,178	0,231
	F	3795,3 <sup>e</sup>	4100,6 <sup>d</sup>	5071,9 <sup>a</sup>	4683,9 <sup>b</sup>	4457,3 <sup>c</sup>	60,78			

\*Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

FDS: farinha desengordurada de soja; FS: farelo de soja; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; SGC: soja grão cru. D. Derivados de soja; I: idade.

EPM: erro padrão da média; P: probabilidade

Tabela 6. Características das fezes de cães de diferentes idades (I) alimentados com uma ração referência e dietas (D) contendo 30% de derivados de soja.

	I	Dietas (D)						EPM	Probabilidades		
		REF	FDS	FS	SM	SGT	SGC		D	I	D x I
MS	A	40,9 <sup>Aa</sup>	31,5 <sup>Ab</sup>	31,1 <sup>Ab</sup>	31,5 <sup>Ab</sup>	31,5 <sup>Ab</sup>	31,9 <sup>Ab</sup>	0,64	<0,001	<0,001	0,889
	F	36,6 <sup>Ba</sup>	28,2 <sup>Bb</sup>	28,7 <sup>Bb</sup>	29,4 <sup>Bb</sup>	28,3 <sup>Bb</sup>	28,7 <sup>Bb</sup>	0,62			
Esc	A	4,0 <sup>Aa</sup>	3,3 <sup>Ab</sup>	3,1 <sup>b</sup>	3,3 <sup>b</sup>	3,4 <sup>Ab</sup>	3,4 <sup>Ab</sup>	0,05	<0,001	<0,001	0,978
	F	3,4 <sup>Ba</sup>	2,8 <sup>Bb</sup>	2,9 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	2,9 <sup>Bb</sup>	2,9 <sup>Bb</sup>	0,06			
pH	A	6,05 <sup>Aa</sup>	5,89 <sup>Ab</sup>	5,83 <sup>Ab</sup>	5,86 <sup>Ab</sup>	6,86 <sup>Ab</sup>	6,87 <sup>Ab</sup>	0,045	<0,001	<0,001	0,712
	F	5,86 <sup>Ba</sup>	5,59 <sup>Bb</sup>	5,58 <sup>Bb</sup>	5,61 <sup>Bb</sup>	6,60 <sup>Bb</sup>	6,60 <sup>Ba</sup>	0,046			
Am	A	4,32 <sup>Ba</sup>	3,92 <sup>Bb</sup>	3,75 <sup>Bb</sup>	3,74 <sup>Bb</sup>	3,88 <sup>Bb</sup>	4,41 <sup>Ba</sup>	0,057	<0,001	<0,001	0,354
	F	5,49 <sup>Aa</sup>	5,23 <sup>Ab</sup>	5,10 <sup>Ab</sup>	5,16 <sup>Ab</sup>	5,05 <sup>Ab</sup>	5,62 <sup>Aa</sup>	0,065			
Pro	A	0,43 <sup>b</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,02	<0,001	0,858	0,503
	F	0,44 <sup>b</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,64 <sup>a</sup>	0,015			

\*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna diferem pelo Tukey (P<0,05) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis para o escore (P<0,05).

\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha diferem pelo Tukey (P<0,05) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis para o escore (P<0,05).

EPM: erro padrão da média; A: adulto; F: filhote

REF: referência; FDS: farinha desengordurada de soja; FS: farelo de soja; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; SGC: soja grão cru.

MS: matéria seca (%); Esc.: escore; Am.: amônia (g/kg); Pro.: produção de fezes na matéria natural (g)/ matéria seca ingerida (g)

#### 4. Discussão

No presente estudo o processo de extrusão da dieta contendo 30% de grão cru de soja não foi suficiente para completa inativação dos inibidores de proteases da soja, como observado pelo maior valor de atividade inibitória de tripsina (Tabela 3) e menor digestibilidade da proteína, tanto em cães adultos, quanto em filhotes (Tabela 4). Entretanto, a atividade ureásica manteve-se dentro do considerado ideal para sojas termicamente processadas (abaixo de 0,20ΔpH; Butolo, 2002) (Tabela 3).

Isso indica que o processo de extrusão da ração contendo 30% de grão cru de soja não é suficiente para completa desnaturação dos inibidores de proteases do grão. Além disso, apesar da determinação da urease ser um método mais prático e barato que a análise de inibidor de tripsina, não apresenta exatidão sobre a

presença de inibidores de proteases, demonstrando que a urease é uma enzima mais sensível à temperatura que o inibidor de tripsina, fato este também constatado por Purushotham et al. (2007).

Acredita-se que a incompleta inativação do inibidor de tripsina seja devido ao curto tempo de permanência da ração no canhão da extrusora (30 a 60 segundos) e ao alto teor de lipídeos das misturas fareladas contendo as sojas micronizada (9,9%) e grãos tostado (10,8%) e cru (10,9%), uma vez que estas dietas foram as que mantiveram os maiores níveis de atividade inibitória de tripsina (Tabela 3).

Os efeitos adversos de altos teores de lipídeos na mistura sobre a extrusão foram relatados por Lin et al. (1997), os quais observaram redução de 100 à 55% no grau de gelatinização do amido em rações extrusadas contendo 0 à 7,5% de extrato etéreo, respectivamente. Segundo os autores, a adição de lipídeos durante a extrusão pode comprometer a gelatinização do amido, devido ao efeito lubrificante do óleo, diminuindo a pressão de cisalhamento e a temperatura no canhão da extrusora e dificultando a absorção de água pelos grânulos de amido.

Apesar dos resultados obtidos no presente estudo, Purushotham et al. (2007) relataram inativação eficiente ( $<2,0\text{mg/g}$ ) do inibidor de tripsina ao extrusar uma fórmula de alimento completo para cães contendo 15% de grão de soja cru entre 125-140°C. Embora os autores não tenham apresentado o teor de extrato etéreo da fórmula extrusada, é provável que o menor nível de inclusão do grão de soja utilizado não tenha proporcionado alto teor de lipídeos na mistura, como no presente estudo, não comprometendo a pressão e temperatura no interior do canhão da extrusora.

Estudos com outras espécies relatam que o desempenho não é comprometido quando os animais são alimentados com sojas, contendo inibidor de tripsina máximo de 3,4mg/g, em aves (Batal et al., 2000) e máximo de 2,0mg/g, em suínos (Webster et al., 2003). Valores estes abaixo dos obtidos no presente estudo com a dieta extrusada contendo 30% de grão cru de soja (4,1mg/g). Assim, ponderando os CDA da PB das sojas processadas avaliadas em cães adultos e filhotes, pode se aferir que valores de inibidor de tripsina máximos de 2,2mg/g, não comprometem a digestibilidade da proteína em cães, uma vez que, 4,1mg de inibidor de tripsina/g de alimento reduziu o CDA da PB do grão de soja (Tabela 4).

Os resultados obtidos corroboram com os relatados em cães adultos, descrevendo valores dos CDA da proteína bruta de dietas, nas quais o farelo de soja

ou a farinha desengordurada de soja foram a principal fonte protéica, entre 80,3% à 87,3% (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Yamka et al., 2006; Carciofi et al., 2009) e a digestibilidade da proteína bruta do grão tostado de soja de 83,7% (Cavalari et al., 2006). Ainda, dentre os derivados protéicos de soja avaliados, a soja micronizada apresentou os maiores CDA, com CDA da proteína bruta semelhante ao relatado por Carciofi et al. (2009) (CDA PB de 87%) em cães alimentados com dieta contendo soja micronizada como principal fonte protéica. A digestibilidade superior da soja micronizada é proveniente, principalmente, do seu baixo teor de fibra (1,4%) e do seu processamento diferenciado. Para a produção da soja micronizada, grãos de soja são descascados e submetidos à vapor indireto e à radiação infravermelha, à 150-180°C, por 2 a 3 minutos e em seguida são floculados. Este processo, além de inativar fatores antinutricionais termolábeis, provoca a ruptura da parede celular, permitindo maior exposição dos nutrientes do grão de soja às enzimas digestivas (Mendes et al., 2004).

Ao aferir a digestibilidade de uma dieta contendo farelo de soja como principal fonte protéica em cães em crescimento (5 meses de idade, aproximadamente), Swanson et al. (2004) relataram digestibilidade de 76,7% da proteína bruta da dieta, valor este inferior ao encontrado neste estudo para a proteína bruta do farelo de soja (85,2%). É provável que, o fato da dieta do estudo supracitado conter 10% de farinha de carne e ossos, além da proteína de outros ingredientes, tenha contribuído para os valores divergentes aos deste estudo. Apesar disso, os autores também não verificaram diferença no CDA da PB entre os cães filhotes e os adultos (11 anos de idade). Em contrapartida, ao contrário deste estudo, os autores relataram menor CDA do EE em cães filhotes.

Resultados conflitantes sobre a digestibilidade dos lipídeos em animais de diferentes idades são encontrados na literatura, sendo que Taylor et al. (1995) não relatam diferença na digestibilidade da gordura em cães de diferentes idades, mas citam decréscimo no aproveitamento dos lipídeos da dieta em gatos idosos. Do mesmo modo, Peachey et al. (1999) também relatam redução na digestibilidade do EE em gatos idosos (11,6 anos), em relação aos jovens (3,0 anos). Embora os cães adultos utilizados neste estudo não sejam considerados idosos (idade menor que sete anos), Burkholder (1999) afirma que há redução na produção de enzimas pancreáticas e decréscimo na secreção e composição dos sais biliares com o

aumento da idade dos animais. Ainda, Handler et al. (1994) observaram redução em 50% na secreção de sais biliares em ratos idosos, quando comparado aos jovens.

A menor digestibilidade do EEA do farelo e da farinha desengordurada de soja em cães adultos e filhotes pode ser justificada pelo menor teor de extrato etéreo desses derivados, o que aumenta a participação relativa da fração lipídica endógena nas fezes. A menor digestibilidade dos lipídeos do farelo de soja também foi relatada por Mendes et al. (2004) em suínos, os quais obtiveram CDA do EE de 66,3% para o farelo de soja e de 94,3% para a soja micronizada.

Não foram encontrados trabalhos que avaliassem a energia metabolizável de derivados protéicos de soja em cães. Mas, em suínos, também é relatada maior EM para a soja micronizada (4350 kcal/kg) (Santos et al., 2005), seguida pelo grão de soja tostado (3690 kcal/kg) (NRC, 1998) e farelo de soja (3360 kcal/kg) (Santos et al., 2005). Provavelmente, o principal motivo dos valores de EM dos derivados de soja obtidos em cães serem superiores aos aferidos em suínos, seja devido ao processo de extrusão das dietas para cães, o qual torna os nutrientes mais disponíveis à digestão (Kohlmeier, 1998). Segundo o NRC (1998) a EM do grão de soja extrusado em suínos é de 4414 kcal/kg, valor este, aproximadamente 20% superior à do grão tostado e próximo ao encontrado neste estudo para cães (média de 4622,1 kcal/kg para as duas idades).

Embora apresente alto valor nutricional, estão bem relatados na literatura os efeitos deletérios de altos níveis de inclusão de soja na dieta sobre a consistência das fezes dos cães (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Yamka et al., 2003; Swanson et al., 2004; Carciofi et al., 2009). Apesar de não terem sido observados episódios de diarreia pelos cães adultos e filhotes, os animais alimentados com dietas contendo 30% de derivados de soja produziram fezes menos consistentes e em maior volume, que os consumindo a dieta referência (Tabela 6).

Os oligossacarídeos e os PNAs presentes no farelo de soja são altamente fermentáveis no intestino grosso, produzindo lactato e ácidos graxos de cadeia curta. Em excesso, os produtos da fermentação dessas frações fibrosas, aumentam a pressão osmótica intraluminal e, aliada à alta capacidade de retenção de água dos PNAs, acarretam em maior volume e menor consistência das fezes dos cães (Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000). A alta fermentação dos carboidratos não digeridos da soja pela microbiota do intestino grosso pode ser confirmada pelo

menor pH das fezes dos cães alimentados com as dietas contendo derivados de soja, em relação à dieta referência (Tabela 6).

A redução no pH intestinal, resultante da fermentação dos carboidratos da soja, podem ter contribuído ao menor teor de amônia nas fezes dos cães consumindo os derivados de soja (Tabela 6). Menor produção de amônia no intestino também foi relatada por Swanson et al. (2002) em cães suplementados com frutooligossacarídeos (FOS). Desse modo, é provável que os oligossacarídeos da soja (principalmente a estaquiose e a rafinose), assim como os FOS, atuem como prebióticos, servindo como substrato para microrganismos produtores de ácido láctico e inibindo o desenvolvimento de microrganismos proteolíticos, como os do gênero *Clostridium* spp., no intestino grosso dos cães. Exceção a esse fato ocorreu com os cães alimentados com a dieta contendo grão cru de soja, os quais apresentaram maior teor de amônia fecal (Tabela 6), provavelmente, devido à maior disponibilidade de proteína não-digerida no intestino, em virtude da incompleta inativação dos inibidores de proteases do grão (Tabela 3).

Embora o NRC (2006) comente o possível efeito da idade sobre a produção de amônia no intestino, não foram encontrados trabalhos que avaliassem o teor de amônia nas fezes de cães de diferentes idades, que pudessem auxiliar na elucidação sobre a maior produção de amônia no intestino de cães filhotes. No entanto, a possibilidade de maior teor de *Clostridium* spp. no cólon de cães filhotes, que em animais adultos (Buddington, 2003), pode explicar esse fato.

Além do maior teor de amônia, os filhotes apresentaram fezes com menor pH e consistência que as produzidas pelos adultos (Tabela 6). A produção de fezes com menor teor de matéria seca em cães filhotes também foi observada por Swanson et al. (2004), em relação aos cães idosos. Essas características das fezes dos filhotes podem ser explicadas pelo maior volume de alimento ingerido/kg peso corporal<sup>0,75</sup>, maior taxa de passagem da digesta (Weber et al., 2003) e pelas alterações na microbiota intestinal durante a fase de crescimento do animal (Buddington et al., 2003).

A maior atividade fermentativa no intestino dos filhotes, caracterizada pelo menor pH e maior teor de amônia das fezes, pode ser indicativa da presença de maior quantidade de alimento não-digerido no intestino desses animais. Assim, a maior fermentação intestinal nos filhotes pode ter contribuído para que estes obtivessem valores de digestibilidade aparente do trato total similares aos dos cães

adultos (Tabela 4). Desse modo, esses fatos precisam ser melhor investigados, para maior explanação à respeito do desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de cães em crescimento e da contribuição de cada segmento do trato na digestão de diferentes alimentos em distintas faixas etárias dos cães.

## 5. Conclusões

O alto teor de proteína digestível de derivados de soja termicamente tratados, somado ao alto teor de lipídeos e energia digestíveis de sojas grão e micronizada, demonstram que estes ingredientes são bem aproveitados por cães adultos e filhotes. Entretanto, devem ser termicamente tratados antes da extrusão para completa inativação do inibidor de tripsina. Além disso, derivados de soja inclusos em 30% na dieta podem resultar na produção de fezes menos consistentes pelos cães, embora reduzam o teor de amônia fecal. Cães acima de 5 anos apresentam menor digestibilidade dos lipídeos da dieta, que cães de 5 à 7 meses de idade.

## 6. Referências

- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Urease Activity. Official Method Ba 9-58. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980a.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Protein Dispersibility Index. Official Method Ba 10-65. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980b.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.
- BATAL, A.B., *et al.* Protein dispersibility index as an indicator of adequately processed soybean meal. **Journal of Poultry Science**, v.79, p.1592–1596, 2000.
- BUDDINGTON, R.K. Postnatal changes in bacterial populations in the gastrointestinal tract of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, p.646–51, 2003.

BUDDINGTON, R.K., *et al.* Activities of gastric, pancreatic, and intestinal brush-border membrane enzymes during postnatal development of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, p.627–34, 2003.

BURKHOLDER, W.J. Age-related changes to nutritional requirements and digestive function in adult dogs and cats. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.215, p.625–629, 1999.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. *Animal Feed Science and Technology*, v.151, p.251-260, 2009.

CAVALARI, A.P., *et al.* Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1985-1991, 2006.

CLAPPER, G. M., *et al.* Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected soybean protein inclusion in extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1523-1532, 2001.

FAHEY, G.C.Jr, *et al.* Age-related changes in nutrient utilization by companion animals. **Annual Revision Nutrition**. 28:425-45, 2008.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.18, n.3, p.309-312, 1998.

HANDLER, J.A. *et al.* Hepatobiliary function in senescent male Sprague-Dawley rats. **Hepatology**, v.19, p.1496–1503, 1994.

KOHLMEIER, R.H. Quality aspects of soybean meal and fullfat soya research findings and recommendations for quality control. American Soybean Association©. Singapore. **Disponível em:** <http://www.pacweb.net.sg/asa>. Acesso em: 07.jan.1998

LIN, S. *et al.* Effects of lipids and processing conditions on degree of starch gelatinization of extruded dry pet food. **Lebens Wiss Technol**, v.30, p.754-761, 1997.

MATTERSON, L.D., *et al.* **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, 1965, 11p. (Research Report, 7)

MENDES, W.S., *et al.* Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.2, p.207-213, 2004.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press, 2.ed, Washington, DC, USA, 2006, 426p.



NATIONAL RESEARCH CONCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. National Academy Press, 10 ed. Washington. 1998, 189p.

PEACHEY, S.E. *et al.* Effect of ageing on resting energy expenditure in cats. **Veterinary Research**, v.144, 1999, 420p.

PURUSHOTHAM, B., *et al.* Effects of Steam Conditioning and Extrusion Temperature on Some Anti-nutritional Factors of Soyabean (Glycine max) for Pet Food Applications. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v.2, n.1, p.1-5, 2007.

RACKIS, J.J. **Biologically active components**. In: A. K. Smith and S. J. Circle (Ed.) Soybean Chemistry and Technology. Vol. I. Proteins, p.158-202. The AVI Publ. Co. Inc., Westport, CT, 1972.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.33, p.103–148, 1993.

SANTOS, Z.A.S., *et al.* Valor nutricional de alimentos para suínos determinado na Universidade Federal de Lavras. **Ciências. agrotécnicas**, v.29, n.1, p.232-237, 2005.

SAS - **Statistical Analysis System**: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, 235p.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. **Nutrition**. 16, 289–295, 2000.

SWANSON, K.S., *et al.* Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3721–3731, 2002.

SWANSON, K.S., *et al.* Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1713–1724, 2004.

TAYLOR, E.J., *et al.* Some nutritional aspects of ageing in dogs and cats. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.54, p.645-656, 1995.

WEBER, M., *et al.* Influence of age and body size on the digestibility of a dry expanded diet in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.87, p.21–31, 2003.

WEBSTER, M.J., *et al.* Evaluating processing temperature and feeding value of extruded-expelled soybean meal on nursery and finishing pig growth performance. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2032-2040, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of soybean meal in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.121–132, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, p.88–94, 2006.

ZUO, Y., *et al.* Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

## **CAPÍTULO IV - EXTRAÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS DA SOJA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, CARACTERÍSTICAS DAS FEZES E PRODUÇÃO DE GÁS INTESTINAL EM CÃES**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), energia metabolizável (EM), características das fezes e a produção de gás intestinal (PGI) em cães alimentados com dietas contendo derivados protéicos de soja. Os derivados avaliados foram: farelo de soja (FS), concentrado protéico de soja (CPS) com 60% de proteína bruta (PB) (CPS60), CPS 70% PB (CPS70), CPS hidrolisado 70% PB (CPSH70) e proteína isolada de soja (PIS), inclusos em 30% da dieta. Os CDA e as características das fezes foram avaliados utilizando seis cães em delineamento quadrado latino (6 x 6). A PGI foi avaliada por radiografia em 16 cães alimentados com as dietas referência e aquelas contendo 30% de FS, CPS70 e PIS. O FS, CPS60, CPS70, CPSH70 e PIS apresentaram os CDA da PB de: 89,8, 83,9, 85,2, 90,6 e 98,8%, respectivamente. A PIS apresentou a maior EM (5079,7kcal/kg) e o CPS60 a menor (3382,5kcal/kg). Os cães alimentados com a dieta controle e contendo a PIS apresentaram fezes mais consistentes e de maior pH. O FS resultou na maior PGI e os demais não diferiram entre si. A remoção dos oligossacarídeos da soja reduz a produção de gás intestinal em cães. Entretanto, também é necessário remover as fibras insolúveis em etanol da soja para aumentar a digestibilidade da proteína, EM e melhorar a consistência das fezes dos cães.

Palavras-chave: Estaquiase. Radiografia. Proteína isolada de soja.

## **EXTRACTION OF SOYBEAN OLIGOSSACHARIDES ON THE DIGESTIBILITY, FECAL CHARACTERISTICS AND INTESTINAL GAS PRODUCTION IN DOGS**

### **Abstract**

The objective was to evaluate the apparent digestibility coefficients (ADC), metabolizable energy (ME), fecal characteristics and production of intestinal gas (PIG) in dogs fed diets containing soybean protein products. The products were: soybean meal (SBM), soy protein concentrate (SPC) with 60% crude protein (CP) (SPC60), SPC 70% CP (SPC70), SPC hydrolyzed 70% CP (SPCH70) and soy protein isolated (SPI), included in 30% in the diet. The experiment of ADC used six dogs in a Latin square design (6 x 6). The PIG was evaluated radiographically in 16 dogs fed diets containing the reference diet and 30% of SBM, SPC70 and SPI. The SBM, SPC60, SPC70, SPCH70 and SPI showed the ADC of CP of: 89.8, 83.9, 85.2, 90.6 and 98.8% respectively. The SPI had the highest ME (5,079.7 kcal/kg) and SPC60 the lowest ME (3,382.5 kcal/kg). Dogs fed the control diet containing the SPI showed firmer stools and feces with higher pH. The SBM has resulted in increased PIG and the other diets did not differ. The removal of soy oligosaccharides reduces the PIG in dogs. However, it is also necessary to remove the insoluble fibers to increase soy CP CDA, ME and to improve fecal consistency of dogs.

Keywords: Radiograph. Soy protein isolated. Stachyose

## 1. Introdução

A combinação entre derivados da soja e co-produtos de origem animal na formulação tem permitido a ponderação entre os níveis protéicos e os macrominerais das dietas para cães. Entretanto, o grão de soja apresenta fatores antidualitativos, como inibidores de proteases, lectina, oligossacarídeos e polissacarídeos-não amiláceos solúveis (PNAs) (Dierick, 1989; Zuo et al., 1996).

Ao contrário dos inibidores de proteases e lectina, os quais são termolábeis, os oligossacarídeos e os PNAs são termoestáveis (Dierick, 1989). Os oligossacarídeos indigestíveis da soja podem ser definidos como carboidratos com grau de polimerização de dois ou mais que são solúveis em etanol a 80% e não são digeridos pelas enzimas pancreáticas e do epitélio intestinal (Quigley et al., 1999). Desse modo, estes são os principais limitantes da inclusão de derivados de soja na alimentação de cães, uma vez que não são destruídos durante o seu tratamento térmico, exigindo processamento diferenciado para sua remoção.

O processo de extração dos oligossacarídeos é caracterizado, basicamente, pelo tratamento dos flocos desengordurados de soja com solução aquosa de etanol a 70-90%; lavagem com água em pH isoeletrico (4,5) ou desnaturação protéica com calor úmido antes da extração com água. Nesses processos, a fração protéica é insolubilizada e os carboidratos solúveis são extraídos, gerando o concentrado protéico de soja (acima de 65% proteína bruta) ou a proteína isolada de soja (acima de 90% proteína bruta), na qual a proteína precipitada é isolada por centrifugação (Lusas & Riaz, 1995).

Os  $\alpha$ -galactosídeos, principalmente estaquiose (32-52 g/kg) e rafinose (6-14 g/kg) (Coon et al., 1990) e os PNAs (60,3 g/kg) da soja (BachKnudsen, 2001) podem aumentar a viscosidade da digesta, prejudicando a interação entre as enzimas endógenas e os nutrientes e a difusão destes pela mucosa intestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta (Oakenfull, 1993). Além disso, esses carboidratos são fermentáveis no intestino grosso, gerando gases, lactato e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Em excesso, os AGCC e o lactato aumentam a pressão osmótica intraluminal e a taxa de passagem no intestino grosso, resultando em maior volume e menor consistência das fezes em cães (Coon et al., 1990; Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000).

Os efeitos dos oligossacarídeos da soja sobre a produção de gás intestinal em cães foram pouco estudados, em virtude da relativa dificuldade em sua quantificação. Um dos métodos de se mensurar a produção de gás intestinal em cães foi descrito por Collins et al. (2001) e utilizado por Yamka et al. (2006), para avaliação dos efeitos dos oligossacarídeos da soja. Nesse método, mensura-se a produção do sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) produzido, por meio de um monitorador de gás acoplado próximo ao anus do cão. Embora esse método possa ser efetivo na mensuração da produção de gás intestinal, exige aparato específico para essa finalidade. Uma alternativa é a mensuração da área de gás intestinal por meio da radiografia do sistema digestório do animal, o qual foi descrito em humanos por Koide et al. (2000) e adaptado para cães por Feliciano (2008).

Considerando a importância nutricional da soja, a escassez de informações sobre a digestibilidade específica de seus derivados em cães e a necessidade de se aprimorar metodologias para avaliação da sua qualidade nutricional, objetivou-se avaliar a digestibilidade, energia metabolizável, produção de gás intestinal e as características das fezes de cães alimentados com derivados protéicos de soja.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Animais e instalações**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina (LENUCAN) da Universidade Federal do Paraná. Para o ensaio de digestibilidade foram utilizados seis cães adultos (6,1 a 6,3 anos) da raça Beagle (três machos e três fêmeas), com peso médio de  $11,2 \pm 1,4$  kg. Para a avaliação da produção de gás intestinal foram utilizados 16 cães adultos (6,1 a 6,3 anos) da raça Beagle (oito machos e oito fêmeas), com peso médio de  $12,1 \pm 1,6$  kg.

Todos os cães passaram por exame clínico prévio e foram vacinados e desverminados. Durante o ensaio de digestibilidade os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável medindo 0,7 m de comprimento x 0,6 m altura x 0,5 m de largura. Os cães utilizados para aferição da produção de gás intestinal foram mantidos em baias de alvenaria com solário de 5,0 m de comprimento por 2,0 m de largura. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética ao Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

## 2.2 Dietas

Foram avaliadas a digestibilidade de uma dieta referência (Tabela 1) e cinco dietas teste compostas por 70% da fórmula da dieta referência e 30% de inclusão de farelo de soja (FS), concentrado protéico de soja (CPS) com 60% de proteína bruta (PB) (CPS60), CPS com 70% de PB (CPS70), CPS hidrolisado com 70% de PB (CPSH70) e proteína isolada de soja (PIS), segundo o método da substituição proposto por Matterson et al. (1965). Para avaliação da produção de gás intestinal foram utilizadas as dietas referência e as contendo 30% de FS, CPS70 e PIS.

A dieta referência foi formulada excedendo o perfil nutricional para cães adultos recomendado pela AAFCO (2004). A composição química e as variáveis qualitativas dos derivados protéicos de soja estão apresentados na Tabela 2.

Para produção do FS, os grãos de soja passaram por rolos quebradores e foram separados da casca, a qual foi moída e tostada. A soja descascada passou pelo condicionador, laminação, extração de óleo, recuperação do solvente (hexano) e tostagem. Os CPS foram obtidos a partir do FS tostado, o qual foi submetido à moagem e tratado com solução de etanol (80%) para remoção dos açúcares solúveis. O CPS70 passou por maior remoção dos açúcares que o CPS60, enquanto o CPSH sofreu processo de hidrólise enzimática após a extração dos açúcares para aumentar a solubilidade protéica. A PIS foi obtida a partir dos flocos brancos de soja, por meio da solubilização da fração protéica em pH 8,5 à 45°C, aproximadamente, com hidróxido de sódio. A solução protéica foi, então, separada da parte insolúvel por centrifugação e acidificada em pH 4,5 com ácido fosfórico. Após nova centrifugação, a fração protéica foi neutralizada (pH 6,5-7,0) e seca por spray-dried.

Os ingredientes foram misturados em misturador vertical e posteriormente moídos a 0,8 mm em moinho de martelos e extrusados em extrusora de rosca simples (*Ferraz, E-130, Ribeirão Preto, Brasil*), com capacidade de 2,0 t/hora. Os parâmetros de extrusão foram controlados para manter as densidades dos extrusados na saída da extrusora entre 430 à 480 g/L. Após extrusão, as dietas foram secas em secador horizontal de tripla esteira durante 20 minutos à 100-110°C e foram recobertas com óleo de frango e, após resfriamento, foi aplicado palatabilizante.

Tabela 1. Ingredientes e composição química analisada da dieta referência.

Ingredientes (%)	
Milho	59,08
Farinha de vísceras de frango	26,14
Glúten de milho 60	5,71
Gordura industrial	5,00
Hidrolizado de frango	1,86
Propionato de cálcio	0,17
Sorbato de potássio	0,03
Suplemento mineral-vitamínico <sup>1</sup>	1,30
Cloreto de sódio	0,71
Total	100,00
Composição química (% na matéria seca)	
Matéria seca	90,97
Proteína bruta	24,62
Extrato etéreo hidrólise ácida	11,01
Fibra bruta	1,35
Matéria mineral	7,00
Cálcio	1,43
Fósforo total	1,02
Extrativos não nitrogenados <sup>2</sup>	56,00
Energia metabolizável (kcal/kg) <sup>3</sup>	4.020,25

<sup>1</sup>Enriquecimento.kg de alimento<sup>-1</sup>: Vit. A – 20000 UI; Vit. D3 – 2000 UI; Vit. E – 480 UI; Vit. K3 - 48 mg; Vit. B1 - 4 mg; Vit. B2 – 32 mg; B12 – 0,2mg; Ácido Pantotênico – 16 mg; Niacina – 56 mg; Colina – 800 mg; Zinco – 150 mg; Ferro – 100 mg; Cobre – 15 mg; Iodo – 1,5 mg; Manganês – 30 mg; Selenio – 0,2 mg e antioxidante 240 mg.

<sup>2</sup>Estimado por: ENN (%) = 100 – (MM% + PB% + EEA% + FB%), na matéria seca.

<sup>3</sup>Estimado segundo o NRC (2006)

Tabela 2. Composição química (expressa na matéria seca) e variáveis qualitativas dos derivados protéicos da soja.

(%)	FS	CPS60	CPS70	CPSH70	PIS
Matéria seca	90,23	91,11	91,73	90,69	95,59
Proteína bruta	55,61	61,88	68,72	69,22	89,80
Extrato etéreo hidrólise ácida	3,66	2,15	1,85	1,98	3,69
Matéria mineral	6,26	6,45	6,05	6,18	4,51
Cálcio	0,54	0,66	0,52	0,58	0,33
Fósforo	0,68	0,90	0,91	0,92	0,71
Fibra bruta	5,61	4,52	4,64	4,79	0,06
Fibra em detergente neutro	17,08	27,14	28,20	29,25	3,22
Fibra em detergente ácido	8,53	8,50	8,78	8,74	0,85
Extrativos não-nitrogenados	28,86	25,00	18,74	17,83	1,94
Frutose	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00
Galactose	1,21	0,00	0,00	0,00	0,00
Sacarose	8,83	2,46	0,48	0,43	0,03
Estaquiase	4,75	2,44	0,48	0,45	0,01
Rafinose	2,63	1,02	0,19	0,20	0,00
Açúcares totais	17,50	5,92	1,14	1,08	0,04
Energia bruta (kcal/kg)	4.899,7	4.936,0	4.946,2	4.948,2	5.548,7
Variáveis qualitativas					
Urease ( $\Delta$ pH)	0,01	0,01	0,01	0,03	1,52
Índice de proteína dispersível (%)	24,01	11,01	16,69	21,70	43,52
Proteína solúvel em KOH (%)	68,05	42,35	56,61	66,02	87,41

FS: Farelo de soja; CPS60: Concentrado protéico de soja com 60% de proteína bruta (PB); CPS70: CPS 70% PB; CPSH70: CPS hidrolisado 70% PB; PIS: Proteína isolada de soja.

### 2.3 Digestibilidade

O ensaio de digestibilidade seguiu as recomendações da AAFCO (2004), com cinco dias de adaptação às dietas e instalações e cinco dias de colheita total de fezes por período. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (7:00 horas e 15:00 horas) em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM), segundo preconizado pelo NRC (2006):  $NEM (kcal/dia) = 130 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ . A água foi fornecida *ad libitum*. Todas as fezes foram colhidas,



no mínimo duas vezes ao dia, pesadas e congeladas individualmente (-14°C), constituindo um composto de fezes de cada animal por período de coleta.

#### *2.4 Características das fezes*

As fezes dos cães foram avaliadas a partir dos valores de matéria seca total nas fezes, produção de fezes, amônia (AOAC, 1995), escore e pH fecal (2,0 g de fezes frescas, diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital). O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se pontuação de 1 a 5: 1: fezes líquidas; 2: fezes pastosas e sem forma; 3: fezes úmidas, macias e formadas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas, secas e consistentes; 5: fezes duras e ressecadas, produzidas em pequenos pedaços quebradiços. Para avaliação do pH e amônia fecal, foram utilizadas fezes colhidas no máximo 15 minutos após a excreção no 5º dia de coleta de fezes.

#### *2.5 Análises laboratoriais*

Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C até peso constante. Após secas, as fezes e os alimentos foram moídos à 1mm e analisadas para determinação dos teores de matéria seca à 105°C, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA) e matéria mineral (MM), segundo a AOAC (1995). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica. Os extrativos não-nitrogenados (ENN, %) foram estimados segundo a equação:  $100 - (\text{umidade\%} + \text{PB\%} + \text{EEA\%} + \text{FB\%} + \text{MM\%})$  e a matéria seca original das fezes obtida por:  $(\text{MS}_{55} \times \text{MS}_{105})/100$ . Para o controle do processamento dos farelos de soja foram determinados a atividade ureásica e o índice de proteína dispersível (IPD), segundo a AOCS (1980a,b) e a proteína solúvel em 0,2% de hidróxido de potássio (PSKOH) (Araba e Dale, 1990). Nos alimentos foram ainda analisados o teor de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), cálcio e fósforo, segundo Silva & Queiroz (2002) e os açúcares: sacarose, frutose, galactose, estaquiose e rafinose por cromatografia gasosa.

## 2.6 Mensuração da produção de gás intestinal

A avaliação da produção de gás intestinal foi realizada conforme descrito por Feliciano (2008) em relação à radiografia, tratamento da imagem e escore de gás. Todos os cães foram alimentados com a dieta referência durante sete dias. No oitavo dia, os animais foram radiografados, em jejum, na posição laterolateral esquerda.

Após a radiografia, quatro grupos, contendo 4 cães cada, foram alimentados com as dietas referência ou contendo 30% de FS, CPS70 ou PIS durante mais sete dias. No oitavo dia os animais foram radiografados, como descrito anteriormente, para comparação da diferença entre a área de gás no mesmo animal consumindo a dieta referência e depois a teste e entre os animais consumindo as diferentes dietas. Foi avaliado o escore de gás intestinal, por meio de pontuação segundo a concentração de gás nos intestinos, sendo: 1, pouco; 2, moderado e 3, muito gás.

As radiografias foram demarcadas com uma régua graduada em cm e fotografadas com câmera digital (*Canon PowerShot® 10.0 Megapixel*). As imagens digitalizadas foram tratadas no software ImageJ® (*Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA*), por meio da segmentação da área de gás (áreas escuras nos intestinos) com limiares de contraste (*threshold*) pela ferramenta *frehand selections* e mensuração das áreas na ferramenta *measure*. Os limiares de contraste foram ajustados para cada imagem. Por meio da régua fotografada junto à radiografia, se estabeleceu a escala (cm) para mensuração das áreas de gás no intestino pelo programa.

## 2.7 Cálculos e análise estatística

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da MS, PB, EEA, MO e ENN da dieta referência (CDrr) e dos ingredientes teste (CDing) pelo método da substituição proposto por Matterson et al., (1965), segundo as equações:

$$CDrr\% = [(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado}) / g \text{ nutriente ingerido}] \times 100$$

$$CDing\% = CDrr\% + [(CDra\tilde{c}\tilde{a}\tilde{o}\tilde{e} \text{ teste}\% - CDrr\%) / (\% \text{Substitui\tilde{c}\tilde{a}\tilde{o}\tilde{e} ing}/100)]$$

A energia metabolizável (EM) foi estimada de acordo com a AAFCO (2004):

$$EM \text{ (kcal/g)} = \{kcal/g \text{ EB ingerida} - kcal/g \text{ EB excretada nas fezes} - [(g \text{ PB ingerida} - g \text{ PB excretada nas fezes}) \times 1,25kcal/g]\} / g \text{ ra\tilde{c}\tilde{a}\tilde{o}\tilde{e} ingerida}$$

A partir dos valores de composição química na matéria seca e dos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes foram calculados os valores dos nutrientes digestíveis (ND):

$$\text{ND (\%)} = [\% \text{ nutriente}/100] \times \text{CDing}$$

Os resultados do ensaio de digestibilidade foram analisados de acordo com um delineamento em Quadrado Latino 6 x 6, com seis tratamentos e seis períodos, totalizando seis repetições por tratamento. A produção de gás intestinal foi avaliada em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento.

Os dados foram previamente verificados quanto à sua normalidade (Shapiro-Wilk) e quando atendida essa premissa foram analisados utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1996). Os resultados foram submetidos à Análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os escores de fezes e de gás foram analisados pelo teste Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade. Foi realizada análise de correlação, utilizando o procedimento CORR do SAS (1996) entre o IPD e os CDAs da MS e PB; entre a PSKOH e os CDAs da MS e PB; entre o teor de açúcares totais da dieta e os CDAs da MS e PB e entre o teor de açúcares totais da dieta e a MS das fezes, pH fecal e a diferença da área de gás intestinal.

### 3. Resultados

#### 3.1 Digestibilidade

Não houve diferença de consumo da MS entre as dietas ( $P > 0,05$ ) (Tabela 3). Nas Tabelas 3 e 4 estão apresentados, respectivamente, os CDA e os nutrientes digestíveis dos derivados protéicos de soja avaliados. A PIS apresentou os maiores CDA e a maior EM, dentre os derivados avaliados ( $P < 0,05$ ), com exceção dos CDAs do EEA, o qual foi o menor valor observado ( $P < 0,05$ ) e ENN, que não diferiu entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ).

O CPSH70 apresentou os maiores CDAs, entre os CPS avaliados, diferindo apenas do CDA do EEA obtido para o FS. O CPS60 apresentou os menores CDAs da PB e EB, entre os ingredientes avaliados, enquanto o CPS70 apresentou valores intermediários de digestibilidade e EM.

A PIS apresentou os maiores teores de proteína e energia digestíveis ( $P<0,05$ ), com exceção do EEA digestível, o qual não diferiu do FS. Foi observada correlação positiva entre os CDA da PB e MS e o IPD ( $P<0,05$ ) e a PSKOH ( $P<0,05$ ), mas não entre o teor de açúcares totais e os CDA da MS e PB ( $P>0,05$ ) (Tabela 7).

Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de derivados protéicos de soja em cães.

	FS	CPS60	CPS70	CPSH70	PIS	EPM	P
CMS	239	238	238	238	235	2,1	0,873
CDA							
MS	85,2 <sup>b</sup>	76,5 <sup>c</sup>	77,2 <sup>c</sup>	86,2 <sup>b</sup>	91,6 <sup>a</sup>	0,91	<0,001
MO	84,7 <sup>b</sup>	78,6 <sup>c</sup>	78,4 <sup>c</sup>	85,5 <sup>b</sup>	92,5 <sup>a</sup>	0,85	<0,001
PB	89,8 <sup>b</sup>	83,9 <sup>d</sup>	85,2 <sup>c</sup>	90,6 <sup>b</sup>	98,8 <sup>a</sup>	0,87	<0,001
EEA	86,6 <sup>ab</sup>	84,5 <sup>c</sup>	85,4 <sup>bc</sup>	87,9 <sup>a</sup>	81,7 <sup>d</sup>	0,93	<0,001
ENN	88,5	87,4	88,5	88,5	86,8	0,58	0,278
EB	87,2 <sup>b</sup>	80,0 <sup>d</sup>	83,9 <sup>c</sup>	84,9 <sup>c</sup>	93,4 <sup>a</sup>	0,86	<0,001
EM	3816,2 <sup>b</sup>	3382,5 <sup>d</sup>	3430,4 <sup>cd</sup>	3457,3 <sup>c</sup>	5079,7 <sup>a</sup>	110,36	<0,001

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

FS: Farelo de soja; CPS60: Concentrado protéico de soja com 60% de proteína bruta (PB); CPS70: CPS 70% PB; CPSH70: CPS hidrolisado 70% PB; PIS: Proteína isolada de soja; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida; ENN: extrativos não-nitrogenados; EB: energia bruta; EPM: erro padrão da média. EPM: erro padrão da média; P: probabilidade

Tabela 4. Valores de proteína (PD), extrato etéreo em hidrólise ácida (EED) e energia (ED) digestíveis de derivados da soja para cães (% da matéria seca).

%	FS	CPS60	CPS70	CPSH70	PIS	EPM	P
PD	49,9 <sup>e</sup>	51,9 <sup>d</sup>	58,5 <sup>c</sup>	62,7 <sup>b</sup>	88,7 <sup>a</sup>	0,87	<0,001
EED	3,2 <sup>a</sup>	1,8 <sup>b</sup>	1,6 <sup>b</sup>	1,7 <sup>b</sup>	3,0 <sup>a</sup>	0,09	<0,001
ED	4272,5 <sup>b</sup>	3948,8 <sup>c</sup>	4199,3 <sup>b</sup>	4201,0 <sup>b</sup>	5182,5 <sup>a</sup>	89,72	<0,001

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

FS: Farelo de soja; CPS60: Concentrado protéico de soja com 60% de proteína bruta (PB); CPS70: CPS 70% PB; CPSH70: CPS hidrolisado 70% PB; PIS: Proteína isolada de soja. EPM: erro padrão da média; P: probabilidade

### 3.2 Características das fezes

As características das fezes dos cães estão apresentadas na Tabela 5. Os cães alimentados com as dietas referência e contendo PIS apresentaram fezes com maior pH, teor de MS e escore que os demais ( $P < 0,05$ ), os quais não diferiram entre si quanto à essas características ( $P > 0,05$ ). Entretanto, os animais alimentados com a PIS na dieta produziram a menor quantidade de fezes na matéria natural ( $P < 0,05$ ), seguidos pelos alimentados com a dieta referência ( $P < 0,05$ ) e, por fim, pelos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). O teor de amônia nas fezes dos cães não diferiu entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Houve correlação negativa entre os açúcares totais dos derivados de soja avaliados e o teor de MS e pH fecal ( $P < 0,05$ ) (Tabela 7).

Tabela 5. Características das fezes de cães alimentados com uma dieta referência e contendo 30% de um derivado de soja.

Variáveis	Ref.	FS	CPS60	CPS70	CPSH70	PSI	EPM	P
Amônia (%)	0,25	0,25	0,26	0,27	0,26	0,26	0,001	0,786
pH	7,04 <sup>a</sup>	6,48 <sup>b</sup>	6,64 <sup>b</sup>	6,40 <sup>b</sup>	6,51 <sup>b</sup>	7,04 <sup>a</sup>	0,063	<0,001
Fezes (g)*	0,46 <sup>c</sup>	0,58 <sup>b</sup>	0,65 <sup>ab</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,57 <sup>b</sup>	0,34 <sup>d</sup>	0,022	<0,001
MS (%)	42,2 <sup>a</sup>	31,5 <sup>b</sup>	31,4 <sup>b</sup>	29,8 <sup>b</sup>	30,9 <sup>b</sup>	42,2 <sup>a</sup>	0,96	<0,001
Escore	4,1 <sup>a</sup>	3,4 <sup>b</sup>	3,4 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	4,3 <sup>a</sup>	0,09	<0,001

MS: Matéria seca; Ref.: Referência; FS: Farelo de soja; CPS60: Concentrado protéico de soja com 60% de proteína bruta (PB); CPS70: CPS 70% PB; CPSH70: CPS hidrolisado 70% PB; PIS: Proteína isolada de soja. EPM: erro padrão da média.

\*Produção de fezes na matéria natural (g)/matéria seca ingerida (g)/dia

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis para o escore de fezes ( $P < 0,05$ )

### 3.3 Produção de gás intestinal

A dieta contendo FS resultou na maior área de gás no intestino dos cães ( $P < 0,05$ ), sendo que os demais alimentos não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). Entretanto, o escore de gás não diferiu entre as dietas ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6). Houve correlação positiva entre teor de açúcares totais e a diferença da área de gás intestinal entre o período teste e controle ( $P < 0,05$ ) (Tabela 7).

Tabela 6. Área e escore de gás intestinal de cães alimentados com dieta referência e contendo 30% de um derivado de soja.

Variáveis	Ref.	FS	CPS70	PIS	EPM	P
Área (cm <sup>2</sup> )	16,47 <sup>b</sup>	25,26 <sup>a</sup>	18,26 <sup>b</sup>	19,03 <sup>b</sup>	0,941	0,012
Diferença (cm <sup>2</sup> ) <sup>*1</sup>	-1,14 <sup>b</sup>	9,44 <sup>a</sup>	2,97 <sup>b</sup>	-0,91 <sup>b</sup>	1,214	<0,001
Escore de gás <sup>*2</sup>	2,00	3,00	2,00	2,25	0,141	0,083

Ref.: Referência; FS: Farelo de soja; CPS70: Concentrado protéico de soja com 70% de proteína bruta; PIS: Proteína isolada de soja. EPM: erro padrão da média.

<sup>\*1</sup>Diferença entre a área de gás intestinal dos cães após sete dias de consumo de uma dieta teste menos área de gás após sete dias de consumo da dieta referência. <sup>\*2</sup>1, pouco; 2, moderado e 3, muito gás.

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey (P<0,05) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis para o escore de gás (P<0,05).

Tabela 7. Correlação entre os açúcares totais da dieta, índice de proteína dispersível (IPD) e proteína solúvel em KOH (PSKOH) e as características das fezes, diferença ( $\Delta$ ) na área de gás intestinal e coeficientes de digestibilidade aparente (CDA).

	Açúcares	IPD	PSKOH	P açúcares	P IPD	P PSKOH
CDA matéria seca	-0,160	0,915	0,924	0,499	<0,001	<0,001
CDA proteína bruta	-0,169	0,887	0,897	0,371	<0,001	<0,001
Matéria seca fecal	-0,399	-	-	<0,001	-	-
pH fecal	-0,308	-	-	0,002	-	-
$\Delta$ gás intestinal	0,861	-	-	<0,001	-	-

P: probabilidade

#### 4. Discussão

O presente estudo demonstrou que os oligossacarídeos da soja, embora apresentem alta fermentação no intestino grosso (constatada pelo menor pH e MS fecal e maior área de gás intestinal), parecem não afetar, nos níveis avaliados, a digestibilidade da MS e PB desses alimentos (correlação não significativa). Em contrapartida, o processamento da soja interfere diretamente a digestibilidade da fração protéica desta, como observado pela alta correlação entre solubilidade protéica em água (IPD) e em KOH (PSKOH) e o CDA da PB.

Assim, é possível que a menor digestibilidade da PB dos CPS60 e CPS70 seja em função da baixa solubilidade da proteína destes, principalmente do CPS60 (Tabela 2). Vale ressaltar que, embora a baixa solubilidade da proteína dos CPS decorrente da insolubilização da fração protéica por etanol não prejudique a digestibilidade desta, tanto quanto o aquecimento térmico, o fato dos CPS terem sido processados a partir do FS tostado pode ter reduzido ainda mais a solubilidade da sua proteína. Ao contrário da PIS, a qual foi obtida a partir dos flocos brancos de soja. Além disso, a atividade ureásica das dietas após a extrusão manteve-se dentro do considerado ideal para sojas termicamente processadas (abaixo de 0,20ΔpH; Butolo, 2002), indicando que a digestibilidade da proteína provavelmente não foi afetada pela presença de inibidores de proteases.

A baixa solubilidade da PB pode ser indicativa do superprocessamento da soja, o qual pode resultar na complexação de açúcares (glicose, maltose) com grupos amino livres, como os da lisina (Reação de Maillard), reduzindo a disponibilidade da proteína dietética. Além disso, podem ocorrer ligações cruzadas entre certos aminoácidos e peptídeos, gerando compostos indisponíveis ao organismo, como a lisinoalanina (Cowel et al., 2000) e a polimerização protéica decorrida da reação de troca de pontes dissulfeto intermoleculares (Caprita & Caprita, 2010).

Segundo Araba & Dale (1990) o processamento da soja pode ser considerado adequado, quando a PSKOH se encontra entre 70% à 85%. Já, segundo Balloun (1980), o processamento da soja é adequado quando os valores de IPD se encontram entre 15% à 30%. Considerando essas recomendações, pode se aferir que o CPS70 e, principalmente, o CPS60 foram superprocessados. Ainda, pode se concluir que os dois métodos de avaliação da qualidade do processamento da soja são adequados para essa aferição, apresentando alta correlação com a digestibilidade protéica (0,915, para IPD e 0,897, para PSKOH, ambos com  $P < 0,001$ ).

O processo de hidrólise enzimática, liberando peptídeos e aminoácidos, aumentou a solubilidade protéica do CPS70 (Tabela 2), bem como sua digestibilidade (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados por Zhao et al. (1997), os quais também relataram maior digestibilidade da proteína hidrolisada de soja (89,0% à 92,3%), em relação à sua forma intacta (82,6% à 87,4%). Entretanto, o CDA da PB do CPSH70 não diferiu do obtido para o FS (Tabela 3), demonstrando

que, possivelmente, a menor solubilidade protéica do CPSH70, mesmo após hidrólise, ainda comprometa parte da digestibilidade da PB. Além disso, o processo de extrusão das dietas pode reduzir ainda mais a solubilidade protéica, ao mesmo tempo em que também pode tornar os nutrientes mais disponíveis à digestão (Kohlmeier, 1998), podendo equivaler a digestibilidade de diferentes ingredientes. Desse modo, a extrusão da dieta pode influenciar a digestibilidade dos ingredientes avaliados, tanto quanto o próprio processamento destes antes da extrusão, sendo difícil isolar esses efeitos para a digestibilidade e EM em cães.

A menor digestibilidade da PB dos CPS60 e CPS70, aliado ao baixo teor de EE destes, podem explicar a menor EM obtida, em relação ao FS (Tabela 4). Esses resultados são opostos aos relatados por Parsons et al. (2000), os quais relataram aumento de até 9,8% na EM verdadeira em galos alimentados com FS contendo baixo teor de oligossacarídeos (0,42% de estaquiose, em média), em relação aos alimentados com FS convencional (3,23% de estaquiose).

Resultados divergentes também são relatados em estudos sobre a digestibilidade de dietas contendo derivados da soja com baixo teor de oligossacarídeos em cães, como por Clapper et al. (2001) e Zuo et al. (1996). Os autores não observaram diferenças nos CDA da PB em cães alimentados com dietas contendo FS (85,3%) e CPS (84,3%, em média) (Clapper et al., 2001) e farelos de soja com baixo teor de oligossacarídeos (82,7%, em média) (Zuo et al., 1996), não relatando diferenças inclusive na digestibilidade ileal da PB. Já, Yamka et al. (2003) relataram redução na digestibilidade ileal da MS (80,7% à 33,8%) e PB (65,4% à 51,1%) de dietas contendo elevado teor de oligossacarídeos (15% à 46% de FS e 0,5% à 5,2% de estaquiose, respectivamente), mas não do CDA do trato total da PB em cães.

Os PNAs e oligossacarídeos da soja são indigestíveis, devido à ausência da produção da  $\alpha$ -1,6-galactosidase no intestino delgado (Zuo et al., 1996). Assim, podem aumentar a taxa de passagem e a viscosidade da digesta, prejudicando a interação entre as enzimas endógenas e os nutrientes e a difusão destes pela mucosa intestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta (Coon et al., 1990; Oakenfull, 1993; Yamka et al., 2003). Os principais oligossacarídeos da soja são a estaquiose e a rafinose, que apresentam ligações do tipo  $\alpha$ -1,6-galactosil. Segundo Coon et al. (1990) o FS pode conter em torno de 3,2% à 5,2% de estaquiose e 0,6% à 1,4% de



rafinose, valores estes próximos ao encontrado para a estaquiose (4,75%), mas inferiores ao da rafinose (2,63%) do FS utilizado neste trabalho.

As dietas do presente estudo contendo 30% de FS, CPS60, CPS70, CPSH70 e PIS apresentaram teores de estaquiose de 1,43%; 0,73%; 0,14%; 0,13% e 0,00% (baseado na matéria seca), respectivamente. Esses valores são inferiores aos da dieta de menor digestibilidade avaliada por Yamka et al. (2003) (5,2%). Assim, é provável que apenas níveis superiores a 3% de estaquiose reduzam a digestibilidade e EM do alimento, uma vez que os derivados de soja utilizados nos estudos de Zuo et al. (1996) e Clapper et al. (2001) resultaram em dietas com teor de estaquiose menor que 3%. Além disso, outros carboidratos indigestíveis, como fibras insolúveis, remanescentes na soja após tratamento com solução de etanol, também podem resultar nos efeitos adversos supracitados sobre a digestibilidade, EM e características das fezes dos cães.

Desse modo, apenas a maior remoção dos carboidratos da soja resultam em maior aproveitamento dos seus nutrientes pelos cães. Como na PIS, a qual apresentou os maiores teores de nutrientes digestíveis (Tabela 4), CDAs e EM (Tabela 3) e os menores valores de FDN (3,22%) e açúcares totais (0,04%) (Tabela 2). Enquanto os demais derivados de soja avaliados apresentaram teores de FDN variando de 17,08% à 29,25% e açúcares totais entre 1,08% à 17,50% (Tabela 2).

Assim como para a digestibilidade, outros carboidratos, além dos açúcares da soja, também afetam as características das fezes dos cães. Uma vez que, mesmo com a remoção dos açúcares, os cães alimentados com os CPS apresentaram fezes menos consistentes e com menor pH, que os animais alimentados com as dietas referência e contendo PIS (Tabela 5), indicando fermentação no intestino. Resultados semelhantes foram descritos por Clapper et al. (2001), os quais relataram produção de fezes mais úmidas em cães alimentados com FS e CPS, em relação à dieta controle.

Os oligossacarídeos e os PNAs presentes na soja são altamente fermentáveis no intestino grosso, produzindo lactato, AGCC e gases, como o CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>. Assim, há aumento da pressão osmótica e da taxa de passagem no intestino grosso, acarretando em maior volume e menor consistência das fezes dos cães, além de flatulência (Coon et al., 1990; Roberfroid, 1993; Grieshop & Fahey, 2000; Silvio et al., 2000). A alta fermentação dos carboidratos não digeridos da soja pela microbiota do intestino grosso pode ser confirmada pela maior área de gás no intestino (Tabela 6)

e menor pH das fezes dos cães alimentados com as dietas contendo FS, em relação à dieta referência (Tabela 5). Entretanto, apesar do menor pH e consistência fecal, o CPS70 não resultou em aumento na produção de gás intestinal (Tabela 6). A alta correlação observada entre os açúcares totais da soja e a produção de gás intestinal comprova que estes são os principais responsáveis pela flatulência em cães alimentados com derivados de soja (0,861,  $P < 0,001$ ).

Estudo desenvolvido em humanos também demonstrou maior produção de gás intestinal por indivíduos que consumiram farinha de soja convencional (3,33% de estaquiose), em relação aos alimentados com farinha de soja com baixo teor de oligossacarídeos (0,46% de estaquiose), aferido por meio do teor de hidrogênio na respiração (Suarez et al., 1999). Já, em cães, Yamka et al. (2006) não relataram diferença na produção de gás intestinal entre os animais alimentados com dietas contendo farelos de soja convencional ou com baixo teor de oligossacarídeos. Nesse estudo, os autores mensuraram a produção de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) produzido, por meio de um monitorador de gás acoplado próximo ao anus do cão, conforme descrito por Collins et al. (2001). Apesar da relevância desse método, há necessidade de aparato específico para sua realização.

O fato do escore de gás não ter indicado diferença entre os tratamentos, como a área de gás (Tabela 6), demonstra que essa avaliação pode apresentar menor acurácia na mensuração da produção de gás intestinal, devendo ser utilizado com cautela, uma vez que é uma medida subjetiva. Por outro lado, a mensuração da área de gás intestinal por radiografia, além de ser uma ferramenta não invasiva e relativamente acessível e fácil de ser utilizada, possibilitou maior precisão na determinação da área de gás intestinal, sendo recomendada para essa finalidade. A eficácia desse método para mensurar a produção de gás no intestino de cães também foi confirmada por Feliciano (2008). Ainda, a mensuração da diferença na área de gás intestinal no mesmo indivíduo consumindo a dieta teste com soja, menos a área obtida após consumo de dieta sem soja, permite redução nos erros de estimativa, uma vez que reduz o erro inerente às diferenças individuais entre os animais.

## 5. Conclusões

Apenas a extração dos oligossacarídeos da soja não aumenta a digestibilidade dos seus derivados em cães. Desse modo, além dessa fração, a remoção de carboidratos fibrosos insolúveis em etanol 80% também é necessária para aumentar a disponibilidade da matéria seca, proteína e energia da soja e promover a excreção de fezes mais consistentes pelos cães. Além disso, cuidados devem ser tomados em relação ao processamento da soja, de modo a desativar os inibidores de proteases, sem comprometimento excessivo da solubilidade da proteína, a qual se mostrou um dos principais fatores que influenciam a digestibilidade protéica. Considerando a relativa facilidade de mensuração da área de gás por meio da radiografia e a boa sensibilidade deste método, este é recomendado para avaliação da produção de gás no intestino de cães.

## 6. Referências

- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Urease Activity. Official Method Ba 9-58. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980a.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Protein Dispersibility Index. Official Method Ba 10-65. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980b.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.
- ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of KOH solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poultry Science**, v.69, p.76–83, 1990.
- BACH KNUDSEN, K.E. The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v.90, p.3-20, 2001.
- BALLOUN, S.L. **Soybean Meal in Poultry Nutrition**. American Soybean Association, St. Louis, MO, 1980.
- BUTOLO, J.E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. 1ªed. Campinas: CBNA, 2002, 430p.

CAPRITA, A.; CAPRITA, R. Modification of the soluble protein content of heat-processed soybean flour. **Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.**, v.38, n.2, p.98-101, 2010.

CLAPPER, G. M., *et al.* Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected soybean protein inclusion in extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1523-1532, 2001.

COLLINS, S.B., *et al.* Development of a technique for the in vivo assessment of flatulence in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, p.1014–1019, 2001.

COON, C.N., *et al.* Effect of oligosaccharide-free soyabean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787–793, 1990.

COWELL, C. S. *et al.* **Making commercial pet foods**. In: HAND, M. S. *et al.* (Ed). Small animal clinical nutrition. 4. ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p.127-146.

DIERICK, N.A. Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzyme and fermentation. **Archives of Animal Nutrition Berlin**, v.3, p.241–246, 1989.

FELICIANO, M.A.R. **Suplementação de probiótico para cães filhotes da raça Beagle recebendo alimentos comerciais**. 2008. 150p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

GRIESHOP, C.M.; FAHEY JR., G.C. The role of soy in companion animal nutrition. In: Soy in Animal Nutrition. Federation of Animal Sciences, Savoy, IL, p.171–181, 2000.

IMAGEJ®. Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA. **Disponível em:** <<http://rsb.info.nih.gov/ij>>. Acesso em: 10/10/2009.

KOIDE, A., *et al.* Quantitative analysis of bowel gas using plain abdominal radiograph in patients with irritable bowel syndrome. **The American Journal of Gastroenterology**, v.95, n.7, p.1735-1741, 2000.

KOHLMEIER, R.H. Quality aspects of soybean meal and fullfat soya research findings and recommendations for quality control. **American Soybean Association**®, 1998. **Disponível em:** <<http://www.pacweb.net.sg/asa>>. Acesso em: 07/10/2008.

LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **Journal of Nutrition**, v.125, p.573S-580S, 1995.

MATTERSON, L.D., *et al.* **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, 1965, 11p. (Research Report, 7)

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2006, 426p.

OAKENFULL, D.G. Physical properties of dietary fibre. In: Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective. (eds. S. Samman and G. Annison). **Nutrition Society Australian Occasional**, v.1, p.47–56, 1993.

PARSONS, C.M., *et al.* Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, v.79, p.1127–1131, 2000.

QUIGLEY, M.E., *et al.* Determination of resistant short-chain carbohydrates (non-digestible oligosaccharides) using gas-liquid chromatography. **Food Chemistry**, v.65, p.381–390, 1999.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.33, p.103–148, 1993.

SAS - **Statistical Analysis System**: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, 235p.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutrition*. 16, 289–295, 2000.

SUAREZ, F.L. *et al.* Gas production in humans ingesting a soybean flour derived from beans naturally low in oligosaccharides. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.135–139, 1999.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of soybean meal in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.121–132, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, p.88–94, 2006.

ZHAO, X.T., *et al.* Intestinal transit and absorption of soy protein in dogs depend on load and degree of protein hydrolysis. **The Journal of Nutrition**. v.127, p.2350–2356, 1997.

ZUO, Y., *et al.* Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

## **CAPÍTULO V - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE FARELOS DE SOJA EM DIETAS PARA CÃES COM OU SEM INCLUSÃO DE CARBOIDRASES**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), energia metabolizável (EM), palatabilidade (P) e as características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja com 46% (FS) e 50% (FSH) de proteína bruta (PB), com ou sem carboidrases (E). Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade, com seis cães adultos cada, distribuídos em quadrado latino 6 x 6, com arranjo fatorial 3 x 2 e um teste de palatabilidade, com 20 cães distribuídos ao acaso. Os cães foram alimentados com seis dietas contendo: 0, 15 e 30% FS (1º ensaio) ou FSH (2º ensaio), com ou sem adição de 0,20% E. No teste de P as dietas foram comparadas em pares em seis testes. O uso de enzimas aumentou os CDA da matéria seca (MS) e PB. Houve interação entre FS x E para a EM, com acréscimo de 127,3 kcal/kg com 15% FS + E, em relação à dieta controle. A adição de FS e FSH aumentou os CDA da MS e PB, em relação à dieta controle, porém, reduziu os CDAs do extrato etéreo e EM. A adição de E não interferiu nas fezes dos cães. Houve redução no teor de MS, escore e pH e acréscimo nas fezes defecadas em cães alimentados com crescentes níveis de FS e FSH. Houve preferência pela dieta com 30% FSH e as contendo E, em relação às demais. O uso de E, embora não altere a consistência das fezes, aumenta a palatabilidade, digestibilidade da MS e PB e a EM de dietas com até 30% de FS para cães.

Palavras-chave: Enzimas. Galactosidase. Polissacarídeos não-amiláceos.

### **POTENCIAL OF USE OF SOYBEAN MEAL IN DOG FOODS WITH OR WITH NO INCLUSION OF CARBOHYDRASES**

#### **Abstract**

The objective of this study was to evaluate feed apparent digestibility coefficient (ADC), metabolizable energy (ME), palatability (P) and faecal traits of dogs fed diets containing increasing levels of soybean meal with 46% (SBM) or 50% (HSBM) crude protein (CP) and with or with no carbohydrases (E). Two feed digestibility trials were carried out with six adult dogs, each distributed in a 6x6 Latin square experimental design in a 3 x 2 factorial arrangement, and a P test, with 20 dogs distributed in a completely randomized experimental design. Dogs were fed diets containing 0, 15, or 30% SBM (trial 1) or HSBM (trial 2), with or with no addition of 0.20% E. In the palatability trial, diets were pair-wise compared in six tests. The use of enzymes increased dry matter (DM) and CP ADCs. The interaction SBM x E influenced ME, with extra 532.7 kJ/kg for the diet with 15% SBM + E, relative to the control diet. The addition of SBM and HSBM increased DM and CP ADCs as compared to the control diet, but reduced ether extract ADC and ME. E addition did not influence the feces of dogs. DM content, faecal score, and pH were reduced, and faecal volume increased in dogs fed higher SBM and HSBM levels. Dogs preferred the diets containing 30% HSBM and with E. Despite not affecting faecal texture, E increased palatability, DM and CP digestibility and ME content of dog foods containing up to 30% SBM.

Keywords: Enzymes. Galactosidase. Non-starch polysaccharides.

## 1. Introdução

A inclusão de farelo de soja à formulação, associado às farinhas de origem animal, tem possibilitado adequado equilíbrio de aminoácidos e redução dos macrominerais dos alimentos comerciais para cães. Apesar disso, o fato dos ingredientes de origem vegetal serem reconhecidos como menos palatáveis para cães, em comparação aos de origem animal (Houpt et al., 1978), somado a presença de  $\alpha$ -galactosídeos, principalmente estaquiose (32-52 g/kg) e rafinose (6-14 g/kg) (Coon et al., 1990) e polissacarídeos não-amiláceos solúveis (PNAs) (60,3 g/kg) no farelo de soja (Bach Knudsen, 2001) tem limitado seu uso na alimentação de cães.

O teor de casca remanescente no farelo influencia o teor desses carboidratos (Lusas & Riaz, 1995). Assim, farelos de soja contendo menor teor protéico (mínimo 42%) e, portanto, maior quantidade de casca, geralmente apresentam maior concentração de carboidratos não digestíveis, que os farelos com maior teor protéico, como o *Hi-pro* (mínimo 48%).

Os oligossacarídeos e os PNAs podem apresentar efeito antidualitativo para cães, uma vez que aumentam a viscosidade da digesta, prejudicando a interação entre as enzimas endógenas e os nutrientes e a difusão destes pela mucosa intestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta (Oakenfull, 1993). Além dos efeitos adversos sobre a digestibilidade, esses carboidratos são altamente fermentáveis no intestino grosso, gerando lactato e ácidos graxos de cadeia curta, os quais em excesso, aumentam a pressão osmótica intraluminal e, aliada à alta capacidade de retenção de água dos PNAs, acarretam em maior volume e menor consistência das fezes dos cães (Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000).

Ao contrário dos inibidores de proteases presentes na soja, os quais são termolábeis, os oligossacarídeos e os PNAs são termoestáveis (Dierick, 1989), não sendo destruídos durante a tostagem da soja ou durante o processo de extrusão e secagem do alimento. A remoção dessas frações pode ser feita por meio do processamento dos flocos desengordurados de soja com solução de etanol, porém isso onera o preço final dos derivados obtidos (concentrado protéico de soja e proteína isolada de soja) (Lusas & Riaz, 1995). Uma alternativa a esse processo seria o uso de enzimas exógenas, o qual é prática antiga na alimentação de aves e suínos e tem demonstrado aumento do aproveitamento nutricional de dietas com alto

teor de PNAs (Fry et al., 1957; Coon et al., 1990), por meio da hidrólise parcial dessas moléculas, reduzindo a viscosidade no intestino (Bedford, 1993). Como demonstrado por Smiricky et al. (2002), os quais relataram aumento expressivo na digestibilidade ileal da estaquiose e rafinose em dietas contendo farelo de soja suplementadas com  $\alpha$ -galactosidase em suínos.

Embora o uso de enzimas exógenas também possa apresentar efeitos benéficos para cães, não foram encontrados trabalhos que relatassem o uso de  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -glucanase e xilanase em dietas contendo farelo de soja para esses animais. Dessa forma, objetivou-se avaliar a digestibilidade, palatabilidade e as características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de inclusão de farelo de soja com teores protéicos de 46% e 50% (*Hi-pro*), suplementadas ou não com carboidratos.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Animais e instalações**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina (LENUCAN) da Universidade Federal do Paraná. Para os ensaios de digestibilidade foram utilizados doze cães adultos (2,1 a 2,3 anos) da raça Beagle (seis machos e seis fêmeas), com peso médio de  $8,4 \pm 1,1$  kg, sendo seis cães para cada ensaio.

O teste de palatabilidade foi conduzido utilizando 20 cães adultos (três a sete anos de idade), machos e fêmeas, sendo oito da raça Beagle ( $12,1 \pm 1,3$  kg) e quatro animais das raças Labrador ( $28,2 \pm 2,7$  kg), Basset Hound ( $21,9 \pm 2,2$  kg) e Husky Siberiano ( $20,8 \pm 1,9$  kg).

Todos os cães passaram por exame clínico prévio e foram vacinados e desverminados. Durante o ensaio de digestibilidade os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável medindo 0,7 m x 0,6 m x 0,5 m. Os cães do teste de palatabilidade permaneceram em baias de alvenaria com solário de 5 m x 2 m. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética ao Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.



## 2.2 Dietas

Nos ensaios de digestibilidade e palatabilidade foram avaliadas dietas isoprotéicas contendo crescentes níveis de farelo de soja com teor protéico de 46% ou farelo de soja *Hi-pro* (50% de proteína bruta), suplementadas ou não com um *blend* enzimático (*Fra Zyme Pe Dry®*, Franklin Products International BV) composto por: 4 u/g  $\alpha$ -galactosidase, 750 u/g  $\beta$ -glucanase e 6000 u/g xilanase. A composição química e os parâmetros qualitativos do processamento dos farelos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química (expressa na matéria natural) e variáveis qualitativas dos farelos de soja 46% e 50%.

Composição química	Farelo de soja 46%	Farelo de soja 50%
Matéria seca (%)	89,88	89,15
Proteína bruta (%)	46,30	50,03
Fibra bruta (%)	6,58	4,61
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	4,05	4,09
Matéria mineral (%)	6,40	6,08
Extrativos não-nitrogenados (%)	26,55	24,34
Energia Bruta (kcal/kg)	4.256	4.313
Variáveis qualitativas		
Urease ( $\Delta$ pH)	0,05	0,04
Índice de proteína dispersível (%)	18,74	17,30

No primeiro ensaio de digestibilidade foram avaliadas dietas contendo 0%, 15% e 30% de farelo de soja contendo 46% de proteína bruta (FS), com e sem adição de 0,20% do *blend* enzimático (E), totalizando seis tratamentos. No segundo ensaio de digestibilidade, também foram avaliadas seis dietas, com e sem adição de 0,20% do *blend* enzimático, entretanto, contendo crescentes níveis de farelo de soja com 50% de proteína bruta (*Hi-pro*) (FSH).

No ensaio de palatabilidade foram avaliadas as dietas 0% FS, 15% FS, 30% FS e 30% FSH. Além disso, foi adicionado 0,20% do *blend* enzimático nas dietas: 0% FS, 30% FS e 30% FSH, resultando em sete tratamentos. As dietas foram moídas em crivos de 0,8 mm e extrusadas em extrusora de rosca simples (*Ferraz*,

E-130). A qualidade do processo foi aferida por meio de mensurações da densidade dos extrusados na saída da extrusora, a qual foi considerada adequada entre 428-462 g/L. Após extrusão, as dietas foram secas em secador de tripla esteira (100-110°C), recobertas com óleo de frango e resfriadas. A adição do *blend* enzimático foi realizada após resfriamento, imediatamente após a aplicação do palatabilizante líquido, juntamente com o palatabilizante em pó. Um período de 15 dias de estabilização foi mantido antes que as dietas fossem fornecidas aos animais. As fórmulas e a composição química analisada das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	0%FS	15%FS	30%FS	15%FS	30%FS
Milho	51,21	48,11	45,01	48,71	46,21
Farelo de soja 46% (FS)	-	15,00	30,00	-	-
Farelo de soja 50% (FSH)	-	-	-	15,00	30,00
Farinha de vísceras de frango	37,5	25,60	13,70	25,00	12,50
Óleo de frango	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Hidrolisado de fígado de aves líquido	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Hidrolisado de fígado de frango pó	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento mineral-vitamínico*	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Antioxidante (BHA e BHT)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antifúngico (propionato de amônio)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Composição química (% da matéria seca)					
Matéria seca	92,50	92,66	92,75	92,22	92,17
Matéria mineral	8,91	8,07	7,02	7,91	6,98
Proteína Bruta	28,11	28,38	28,63	28,81	28,92
Extrato etéreo em hidrólise ácida	15,62	14,69	13,50	14,55	13,61
Fibra bruta	3,59	4,11	4,46	4,02	4,39
Extrativos não-nitrogenados <sup>a</sup>	43,77	44,75	46,39	44,71	46,10
Energia Metabolizável(kcal/100g) <sup>b</sup>	411,40	402,22	394,94	398,01	369,15

\*Suplemento Mineral-vitamínico (conteúdo/kg): Vit. A – 16.900 IU, Vit. D3 – 2.340 IU, Vit. E – 104 ppm, Vit. K – 1,3 ppm, Vit. B1 – 3,9 ppm, Vit. B2 – 6,5 ppm, Ácido pantotênico – 19,5 ppm, Niacina – 32,5 ppm, Colina – 1.150,75 ppm, Zinco – 156 ppm, Ferro – 104 ppm, Cobre – 13 ppm, Iodo – 2,6 ppm, Manganês – 45,5 ppm, Selênio – 0,26 ppm.

<sup>a</sup>ENN= 100-(proteína bruta% + matéria mineral% + fibra bruta% + extrato etéreo em hidrólise ácida).

<sup>b</sup>Estimado segundo o NRC (2006).

### 2.3 Digestibilidade

Os ensaios de digestibilidade seguiram as recomendações da AAFCO (2004), com cinco dias de adaptação às dietas e instalações e cinco dias de colheita total de fezes por período. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (7:00 horas e 15 horas) em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM), segundo preconizado pelo NRC (2006):  $NEM \text{ (kcal/dia)} = 130 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ . A água foi fornecida *ad libitum*.

Todas as fezes foram colhidas, no mínimo duas vezes ao dia, pesadas e congeladas individualmente (-14°C), constituindo um composto de fezes de cada animal por período de coleta.

### 2.4 Características das fezes

Foi avaliado o escore das fezes, sempre pelo mesmo pesquisador, por meio de pontuação variando de 1 a 5: 1: fezes líquidas; 2: fezes pastosas e sem forma; 3: fezes úmidas, macias e formadas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas, secas e consistentes; 5: fezes duras e ressecadas, produzidas em pequenos pedaços quebradiços. O pH fecal foi avaliado nas fezes frescas (máximo de 15 minutos após defecação) em pHmêtro digital (2,0 g de fezes frescas, diluídas em 20 mL de água destilada).

### 2.5 Análises laboratoriais

Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C até peso constante (MS<sub>55</sub>). Após secas, as fezes e os alimentos foram moídos à 1 mm e analisadas quanto à matéria seca à 105°C (MS<sub>105</sub>), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA) e matéria mineral, segundo a AOAC (1995). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica. Os extrativos não-nitrogenados (ENN, %) foram estimados segundo a equação:  $100 - (\text{umidade\%} + \text{PB\%} + \text{EEA\%} + \text{FB\%} + \text{MM\%})$  e a matéria seca original das fezes obtida por:  $(MS_{55} \times MS_{105})/100$ . Para o controle do processamento térmico dos farelos de soja foram determinados a atividade ureásica e o índice de proteína dispersível, segundo a AOCS (1980a,b).

## 2.6 Palatabilidade

A palatabilidade foi mensurada comparando-se as dietas em pares (Griffin, 2003), resultando em seis testes: 0% FS x 15% FS; 0% FS x 30% FS; 30% FS x 30% FSH; 0% FS x 0% FS + E; 30% FS x 30% FS + E e 30% FSH x 30% FSH + E. Cada alimento foi fornecido em quantidade 30% superior as recomendações de NEM do NRC (2006), utilizada para a digestibilidade. Os cães utilizados foram treinados desde jovens a escolher entre dois alimentos e não apresentavam desvios de comportamento.

Cada teste de palatabilidade foi composto por dois dias consecutivos, nos quais foram fornecidos, uma vez ao dia (17 horas), aos cães, dois potes contendo as duas diferentes dietas a serem comparadas, durante um período de 30 minutos. A palatabilidade foi determinada por meio da mensuração da preferência alimentar e primeira escolha entre as rações ofertadas aos cães. As quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas para se calcular a preferência alimentar e a primeira escolha definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. A posição dos potes foi alternada no segundo dia de teste para se evitar preferências por posição de alimentação.

## 2.7 Cálculos e análise estatística

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram calculados com base nos resultados laboratoriais das dietas e fezes, sendo:

$$\text{CDA (\%)} = [(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado}) / g \text{ nutriente ingerido}] \times 100$$

A Energia Metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2004), sendo:

$$\text{EM (kcal/kg)} = \{ \text{kcal/g energia bruta ingerida} - \text{kcal/g energia bruta excretada nas fezes} - [(\text{g proteína bruta ingerida} - \text{g proteína bruta excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}] \} / g \text{ alimento ingerido}$$

A preferência alimentar foi calculada com base no consumo (fornecido – sobras) relativo das dietas (A e B), sendo:

$$\text{Preferência alimentar (\%)} = [g \text{ ingeridas da dieta A ou B} / g \text{ totais fornecidas (A + B)}] \times 100$$

Os resultados dos ensaios de digestibilidade foram analisados de acordo com um delineamento em Quadrado Latino 6 x 6, com seis tratamentos e seis períodos, totalizando seis repetições por tratamento, em esquema fatorial 3 x 2 (nível de inclusão de FS ou FSH e com ou sem E). Os dados foram previamente analisados

quanto à sua normalidade (Shapiro-Wilk) e quando atendida essa premissa foram analisados utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1996). Foi considerada diferença estatística quando o teste F da Análise de Variância (ANOVA) demonstrou diferença significativa a 5% de probabilidade. As médias obtidas para os crescentes níveis de inclusão de farelo de soja foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. O escore fecal foi analisado pelo teste Kruskal-Wallis, considerando  $P < 0,05$  como diferença significativa.

Os resultados da palatabilidade foram analisados como delineamento inteiramente casualizado. Os dados de consumo voluntário foram analisados pelo teste t-Student e a primeira escolha pelo teste Qui-quadrado, ambos a 5% de probabilidade.

### 3. Resultados

#### 3.1 Digestibilidade

Todos os cães consumiram totalmente as dietas ofertadas nos experimentos de digestibilidade, não havendo diferença de consumo para as dietas contendo FS e FSH (Tabelas 3 e 5).

A suplementação de 0,20% do *blend* enzimático aumentou a digestibilidade da MS, MO, PB e EB e a EM das dietas do experimento com FS ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). A adição de farelo de soja 46% aumentou a digestibilidade da MS e PB, em relação à dieta controle. Porém, reduziu a digestibilidade da MO, EEA, ENN, EB e EM, principalmente com 30% de inclusão ( $P < 0,05$ ), uma vez que 15% de inclusão não alterou a digestibilidade dos ENN, EB e a EM, em relação à dieta controle ( $P > 0,05$ ) (Tabela 3). Foi observada interação significativa entre FS x E apenas para a EM ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3), sendo que o uso da enzima aumentou 127,3 kcal e 113,8 kcal de EM nas dietas contendo 15 e 30% FS, respectivamente, enquanto esse efeito não foi observado na dieta controle (Tabela 4).

Em relação às dietas contendo FSH, a adição de enzimas aumentou os CDAs da MS, MO e PB ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5), não interferindo sobre a energia, como ocorreu com as dietas contendo FS. As dietas contendo FSH apresentaram maior digestibilidade da MS e PB, em relação à controle e menor digestibilidade do EEA e EM ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5), sendo que os CDAs da MO, ENN e EB não diferiram entre

os tratamentos ( $P>0,05$ ). Não houve interação entre E x FSH para nenhuma das variáveis analisadas ( $P>0,05$ ).

Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja 46% e *blend* enzimático.

	Enzimas (E)		Farelo de soja (FS)			EPM	Probabilidades		
	Com	Sem	0%	15%	30%		E	FS	ExFS
CMS	218	218	218	218	218	1,9	1,000	1,000	1,000
CDA									
MS	81,3	80,1	79,3 <sup>b</sup>	81,7 <sup>a</sup>	80,6 <sup>a</sup>	0,29	0,035	0,028	0,229
MO	85,9	84,9	86,3 <sup>a</sup>	86,1 <sup>a</sup>	84,0 <sup>b</sup>	0,27	0,023	<0,001	0,200
PB	83,8	82,3	81,1 <sup>b</sup>	84,5 <sup>a</sup>	84,1 <sup>a</sup>	0,35	0,011	<0,001	0,329
EEA	92,9	92,3	94,7 <sup>a</sup>	92,6 <sup>b</sup>	90,7 <sup>c</sup>	0,32	0,149	<0,001	0,703
ENN	90,5	89,8	90,8 <sup>a</sup>	90,3 <sup>ab</sup>	89,0 <sup>b</sup>	0,26	0,126	0,002	0,703
EB	86,7	85,8	86,4 <sup>a</sup>	87,1 <sup>a</sup>	84,9 <sup>b</sup>	0,27	0,030	<0,001	0,206
EM	4366,9	4290,9	4393,7 <sup>a</sup>	4388,6 <sup>a</sup>	4208,0 <sup>b</sup>	18,46	<0,001	<0,001	0,013

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA); ENN: extrativos não-nitrogenados; EB: energia bruta; EPM: erro padrão da média.

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

Tabela 4. Interação entre farelo de soja 46% e *blend* enzimático sobre a energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães.

CDA	Enzimas	Farelo de soja 46%		
		0%	15%	30%
EM	Com	4379,2 <sup>a</sup>	4452,3 <sup>Aa</sup>	4269,4 <sup>Ab</sup>
	Sem	4401,2 <sup>a</sup>	4325,0 <sup>Ba</sup>	4146,6 <sup>Bb</sup>

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras minúsculas distintas diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

<sup>A,B</sup>Médias na mesma coluna com letras maiúsculas distintas diferem pelo teste F ( $P<0,05$ ).

Tabela 5. Consumo de matéria seca (CMS, g/dia), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) de dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja *Hi-pro* (50%) e *blend* enzimático.

	Enzimas (E)		Farelo de soja <i>Hi-pro</i> (FSH)			EPM	Probabilidades		
	Com	Sem	0%	15%	30%		E	FSH	ExFSH
CMS	215	215	215	215	215	1,5	1,000	1,000	1,000
CDA									
MS	82,2	80,8	79,9 <sup>b</sup>	81,9 <sup>a</sup>	82,6 <sup>a</sup>	0,30	0,004	<0,001	0,092
MO	86,8	85,4	86,1	86,3	86,2	0,21	0,005	0,904	0,133
PB	84,1	82,4	81,4 <sup>b</sup>	83,6 <sup>a</sup>	84,5 <sup>a</sup>	0,36	0,004	<0,001	0,075
EEA	93,4	92,7	94,5 <sup>a</sup>	92,7 <sup>b</sup>	91,9 <sup>b</sup>	0,24	0,039	<0,001	0,518
ENN	91,2	90,5	91,2	90,7	90,7	0,25	0,165	0,643	0,679
EB	87,2	86,4	86,7	87,0	86,8	0,22	0,074	0,801	0,367
EM	4349,6	4343,9	4390,2 <sup>a</sup>	4343,3 <sup>ab</sup>	4306,8 <sup>b</sup>	11,53	0,794	0,014	0,239

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA); ENN: extrativos não-nitrogenados; EB: energia bruta; EPM: erro padrão da média.

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

### 3.2 Características das fezes

A suplementação de enzimas não interferiu sobre as características das fezes dos cães, não sendo observada interação significativa entre E x FS e E x FSH (P>0,05) (Tabelas 6 e 7). No entanto, houve redução significativa no teor de MS, escore fecal e pH e acréscimo na quantidade de fezes defecadas na matéria natural em cães alimentados com as dietas contendo crescentes níveis de inclusão de FS e FSH (P<0,05) (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja 46% e *blend* enzimático.

	Enzimas (E)		Farelo de soja (FS)			EPM	Probabilidades		
	Com	Sem	0%	15%	30%		E	FS	ExFS
MS (%)	35,7	35,3	41,6 <sup>a</sup>	35,5 <sup>b</sup>	29,8 <sup>c</sup>	0,77	0,605	<0,001	0,228
Escore	3,6	3,4	4,1 <sup>a</sup>	3,5 <sup>ab</sup>	3,1 <sup>b</sup>	0,08	0,115	<0,001	-
pH	6,54	6,65	7,01 <sup>a</sup>	6,58 <sup>b</sup>	6,32 <sup>c</sup>	0,091	0,082	<0,001	0,215
Fezes*	0,18	0,19	0,16 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,008	0,072	<0,001	0,059

MS: matéria seca fecal; EPM: erro padrão da média.

\*Produção de fezes na matéria natural (g)/matéria seca ingerida (g)/dia

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey (P<0,05) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis para o escore de fezes (P<0,05)

Tabela 7. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo crescentes níveis de farelo de soja *Hi-pro* (50%) e *blend* enzimático.

	Enzimas (E)		Farelo de soja <i>Hi-pro</i> (FSH)			EPM	Probabilidades		
	Com	Sem	0%	15%	30%		E	FSH	ExFSH
MS	35,2	34,8	41,2 <sup>a</sup>	34,8 <sup>b</sup>	29,0 <sup>c</sup>	0,84	0,675	<0,001	0,846
Escore	3,7	3,4	3,9 <sup>a</sup>	3,5 <sup>b</sup>	3,3 <sup>b</sup>	0,08	0,084	<0,001	-
pH	6,59	6,68	7,03 <sup>a</sup>	6,67 <sup>b</sup>	6,49 <sup>c</sup>	0,088	0,094	<0,001	0,236
Fezes*	0,17	0,18	0,16 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,004	0,099	<0,001	0,071

MS: matéria seca fecal; EPM: erro padrão da média.

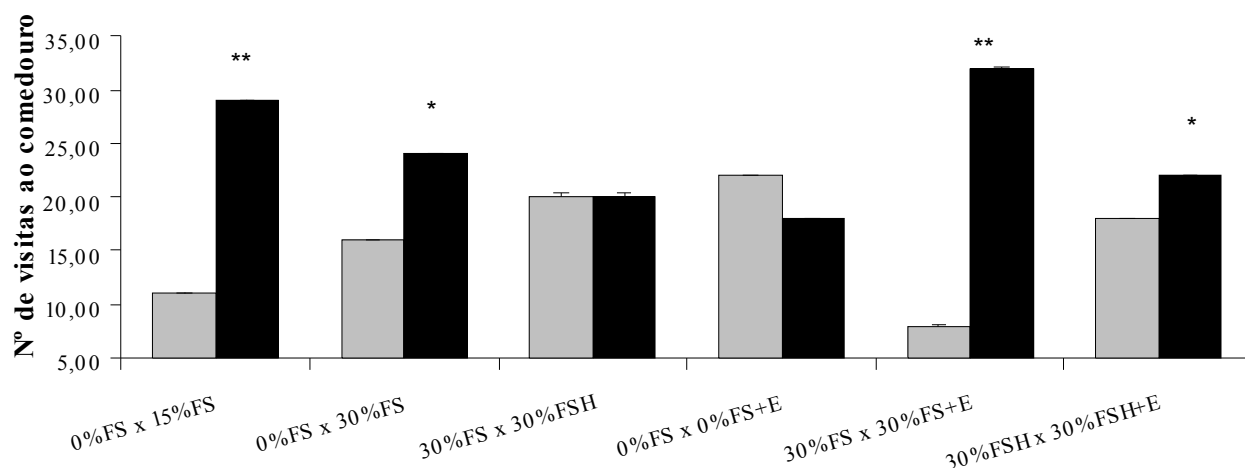
\*Produção de fezes na matéria natural (g)/matéria seca ingerida (g)/dia

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste Tukey (P<0,05) ou medianas pelos teste Kruskal-Wallis para o escore de fezes (P<0,05)

### 3.3 Palatabilidade

Os animais escolheram primeiramente as dietas contendo farelo de soja, independente do nível de inclusão, em relação à dieta controle (P<0,05), o mesmo ocorreu para as dietas contendo 30% FS e 30% FSH acrescidas de enzimas, em detrimento das dietas contendo apenas 30% FS e 30% FSH (P<0,05) (Figura 1). Não houve diferença na primeira escolha entre as dietas contendo 30% FS e 30% FSH, bem como entre as dietas controle com e sem enzimas (P>0,05) (Figura 1).

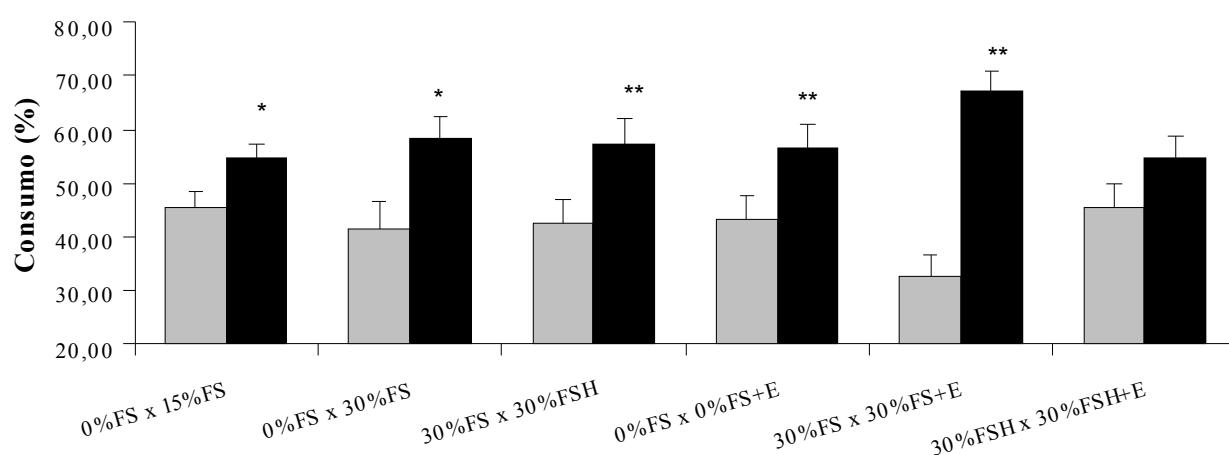




\* $p < 0,05$  pelo teste Qui-quadrado. \*\* $p < 0,01$  pelo teste Qui-quadrado

Figura 1. Número de visitas ao comedouro em dietas confrontadas em par contendo ou não farelo de soja 46% (FS) e 50% (FSH) e 0,20% de enzimas (E) (n=40)

A Figura 2 mostra os resultados de preferência alimentar das dietas experimentais. As dietas contendo farelo de soja incluso em 15% e 30% foram consumidas em maior quantidade que a dieta controle ( $p < 0,05$ ). Sendo que ao confrontar o farelo de soja 46% e o *Hi-pro* (50%), os animais preferiram a dieta contendo 30% de FSH ( $p < 0,05$ ). A inclusão de 0,20% do *blend* enzimático estimulou o consumo pelos cães, tanto na dieta controle quanto na contendo 30% FS ( $p < 0,05$ ). Já, a inclusão de enzima na dieta contendo 30% FSH não estimulou o consumo pelos cães ( $p > 0,05$ ).



\* $p < 0,05$  pelo teste t-Student. \*\* $p < 0,01$  pelo teste t-Student

Figura 2. Consumo de dietas confrontadas em par contendo ou não farelo de soja 46% (FS) e 50% (FSH) e 0,20% de enzimas (E) (n=40)

#### 4. Discussão

A inclusão de  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -glucanase e xilanase em dietas contendo farelo de soja teve como propósito hidrolisar os galactosídeos (rafinose, estaquiose, dentre outros) e os PNAs do farelo de soja, de modo a minimizar os efeitos adversos desses compostos sobre a digestibilidade e as características das fezes dos cães. Entretanto, foi observada interação entre inclusão do *blend* enzimático e farelo de soja apenas para a EM no experimento com farelo de soja 46%. Enquanto houve aumento na digestibilidade da MS, MO e PB das dietas contendo enzimas em ambos experimentos (FS e FSH) e aumento no CDA EB no experimento com FS, independentemente do nível de inclusão dos farelos.

Embora o milho apresente baixo teor de PNAs (0,9%, aproximadamente) em relação ao farelo de soja (6,3%, aproximadamente) (Bach Knudsen, 2001), por ser o ingrediente de maior inclusão na formulação das dietas utilizadas no presente estudo, pode contribuir com até 0,46% de PNAs (dieta 0% farelo de soja, com 51,21% de milho), enquanto que o farelo de soja pode resultar em 1,89% de PNAs (dieta contendo 30% de farelo de soja). Assim, o fato do milho também contribuir com valor expressivo de PNAs na dieta pode explicar a ausência de interação entre as enzimas utilizadas e os farelos de soja para a maioria das variáveis analisadas. Principalmente, devido ao *blend* enzimático utilizado conter  $\beta$ -glucanase e xilanase, as quais atuam sobre as  $\beta$ -glucanas e arabinoxilanas presentes no milho. Segundo Choct & Annison (1992), essas enzimas, ao hidrolisarem os polímeros de PNAs em moléculas menores, reduzem a viscosidade da digesta no intestino delgado e, por conseguinte, permite maior atuação das enzimas digestivas sobre os nutrientes, bem como maior absorção destes pelo epitélio intestinal.

Melhorias na digestibilidade de dietas suplementadas com enzimas exógenas também são relatadas em trabalhos realizados em aves e suínos. Kim et al. (2006) relataram aumento na digestibilidade da matéria seca, aminoácidos e energia de dietas à base de milho e farelo de soja contendo 0,05% de um *blend* enzimático ( $\alpha$ -1,6-galactosidase,  $\beta$ -1,4- mananase e  $\beta$ -1,4- manosidase) em suínos. De modo semelhante, Garcia et al. (2000), em frangos de corte, observaram aumento na metabolizabilidade da energia e proteína de dietas contendo soja integral extrusada ou farelo de soja, suplementadas com 0,10% de uma mistura de  $\alpha$ -galactosidase, pectinases, celulase e proteases.

Apesar disso, os poucos estudos em cães com enzimas exógenas não relatam melhoria na digestibilidade. Como o desenvolvido por Twomey et al. (2003), com um *blend* enzimático composto por xilanase,  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase, dentre outras enzimas, em dietas à base de milho ou sorgo e o de Yamka et al (2006), avaliando uma dieta contendo 30% de farelo de soja com 0,50% de  $\beta$ -mananase.

Assim como neste estudo, os autores supracitados também não relataram aumento na consistência das fezes dos cães alimentados com dietas contendo enzimas, sendo que inclusive, Twomey et al. (2003) observaram produção de fezes menos consistentes pelos cães que consumiram as dietas contendo enzimas. Yamka et al. (2006) ainda verificaram tendência para maior produção de gás intestinal em cães alimentados com dietas contendo  $\beta$ -mananase. Segundo os autores, o uso de carboidrases nas dietas pode aumentar a disponibilidade de substrato para a microbiota intestinal, uma vez que reduz o tamanho das moléculas, aumentando a taxa de fermentação. Assim, embora não tenha havido redução significativa no pH das fezes dos cães alimentados com dietas contendo enzimas no presente estudo, considerando  $P < 0,082$  e  $P < 0,094$  para os experimentos com FS e FSH, respectivamente, verifica-se possibilidade de maior fermentação no intestino dos animais alimentados com as dietas contendo enzimas. Embora mais estudos sejam necessários nesse contexto para validação dessa tendência.

Em relação à digestibilidade dos farelos de soja, estudos corroboram com os resultados obtidos, com valores dos CDA da proteína bruta de dietas, nas quais o farelo de soja ou a farinha de vísceras de frango foram a principal fonte protéica, variando entre 80,3 à 86,3%, para o farelo de soja e entre 76,9 à 86,9%, para a farinha de vísceras (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Carciofi et al., 2006; Yamka et al., 2006). A alta digestibilidade da proteína bruta do farelo de soja demonstra que este ingrediente é bem aproveitado pelos cães, podendo enriquecer as formulações comerciais, principalmente quando associado à fontes protéicas de origem animal, para maior adequação dos aminoácidos essenciais, principalmente metionina e cistina.

Apesar da alta digestibilidade da proteína do farelo de soja, é importante verificar o nível de inclusão mais adequado deste, de modo a não prejudicar a palatabilidade, qualidade das fezes produzidas e a digestibilidade de outras frações nutricionais da dieta. Como relatado por Yamka et al. (2003), em estudo com crescentes níveis de inclusão de farelo de soja (15,0 a 46,1%), no qual, embora não

tenha ocorrido redução na digestibilidade da proteína bruta, houve redução linear na digestibilidade da matéria seca com o aumento de farelo de soja na dieta.

Apesar da maior inclusão de FS e FSH não ter reduzido a digestibilidade da matéria seca da dieta no presente trabalho, houve redução na digestibilidade da matéria orgânica, extrato etéreo e energia bruta e na energia metabolizável da dieta contendo 30% de FS. A redução na digestibilidade dessas frações foi menos expressiva nas dietas contendo 30% FSH, possivelmente devido ao seu menor teor de fibra. Segundo Eastwood (1992) as fibras podem reduzir a digestibilidade da gordura e, por conseguinte, da energia, por se ligarem ou formar barreira física ao redor desta, dificultando a ação dos sais biliares e lipases sobre os lipídios.

Embora o aumento no teor de fibras da dieta, com a inclusão de FS e FSH, não tenha prejudicado a digestibilidade da matéria seca e proteína bruta, houve redução no teor de matéria seca e escore fecal e aumento no volume de fezes excretadas com o aumento no nível de inclusão dos farelos de soja na dieta, com efeito mais pronunciado para o farelo de soja 46%. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Yamka et al. (2003), os quais também relataram redução linear no teor de matéria seca das fezes e aumento na quantidade de fezes excretadas com a inclusão de níveis crescentes de farelo de soja na dieta de cães.

Os oligossacarídeos e os PNAs presentes no farelo de soja são altamente fermentáveis no intestino grosso, produzindo lactato e ácidos graxos de cadeia curta. Assim, há aumento da pressão osmótica no lúmen intestinal, acarretando em maior volume e menor consistência das fezes dos cães (Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000). A alta fermentação dos carboidratos não digeridos da soja pela microbiota do intestino grosso pode ser confirmada pelo menor pH das fezes dos cães alimentados com as dietas contendo farelo de soja, em relação à dieta controle.

Os efeitos adversos dos carboidratos não digestíveis da soja sobre a qualidade das fezes dos cães são um ponto importante a ser melhor investigado, uma vez que é um dos maiores limitantes do uso da soja em alimentos comerciais para cães.

Poucos são os estudos publicados sobre as preferências alimentares de cães, mas por serem animais basicamente carnívoros, esperava-se que apresentassem maior consumo pela dieta contendo maior quantidade de farinha de vísceras de frango, como observado por Houpt et al. (1978). Os autores relataram que cães apresentam alta preferência por carne e açúcar, preferindo carne a uma dieta com

alto teor protéico contendo milho e farelo de soja. No entanto, o que se observou neste trabalho foi maior preferência pelas dietas contendo farelo de soja.

Os resultados divergentes obtidos no presente estudo podem ser devido aos autores supracitados terem comparado um alimento seco extrusado à carne *in natura*. Nesse caso, além do flavor mais pronunciado da carne *in natura*, a textura desta também estimula o consumo pelos cães, devido à preferência por alimentos mais úmidos (Kitchell, 1972). Além disso, o fato do farelo de soja conter elevado teor de sacarose (49 g/kg, aproximadamente) (Gdala et al., 1997) também pode ter contribuído para estimular o consumo pelos cães.

O maior consumo pelos cães das dietas contendo adição do complexo enzimático pode ser devido à natureza protéica das enzimas e pela hidrólise enzimática do substrato da dieta, liberando compostos de baixo peso molecular, que também estimulam o consumo (Crane et al., 2000).

## 5. Conclusões

Farelos de soja contendo 46 e 50% de proteína bruta são fontes protéicas de alta digestibilidade e palatabilidade para cães, principalmente quando associados ao uso de carboidrases nas dietas. Entretanto, em níveis de inclusão acima de 15% podem resultar na produção de fezes em maior volume e menos consistentes pelos cães, sem melhora com a adição de enzimas.

## 6. Referências

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Urease Activity. Official Method Ba 9-58. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980a.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Protein Dispersibility Index. Official Method Ba 10-65. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980b.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BACH KNUDSEN, K.E. The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v.90, p.3-20, 2001.

BEDFORD, M. Mode of action of feed enzymes. **Journal of Applied Poultry Research**, v.2, p.85–92, 1993.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.754-760, 2006.

CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, v.33, p.821–834, 1992.

CLAPPER, G. M., *et al.* Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected soybean protein inclusion in extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1523-1532, 2001.

COON, C.N., *et al.* Effect of oligosaccharide-free soyabean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787–793, 1990.

CRANE, S.W., *et al.* Introduction to commercial pet foods. In: Hand, M. S.; Thatcher, C. D.; Remillard, R. L. (Eds). **Small animal clinical nutrition**. 4.ed. Topeka: Mark Morris Institute. 111-126, 2000.

DIERICK, N.A. Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzyme and fermentation. **Archives of Animal Nutrition Berlin**, v.3, p.241–246, 1989.

EASTWOOD, M.A. The physiological effect of dietary fiber: An update. **Annual Revision Nutrition**, v.12, p.19–35, 1992.

FRY, R.E., *et al.* Influence of cereal grain components of the diet on the response of chicks and poults to dietary enzyme supplements. **Poultry Science**, v.36, p.1120–1120, 1957.

GARCIA, E.R.M., *et al.* Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1414-1426, 2000.

GDALA, J., *et al.* The digestibility of carbohydrates, protein and fat in the small and large intestine in piglets fed non-supplemented and enzyme supplemented diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.65, p.15-33, 1997.

GRIFFIN, R.W. Palatability testing: parameters and analysis that influence test conclusions. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.), **Petfood Technology**. Watt Publishing, Mt. Morris, p.187–193, 2003.

HOUPT, K.A., *et al.* The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses**, v.3, p.281-290, 1978.

KIM, S.W., *et al.* Use of carbohydrases in corn-soybean meal based grower-finisher pig diets. **Animal Research**, v.55, p.563-578, 2006.

KITCHELL, R.L. Dogs know what they like. **Friskies Res. Digest**. v.8, p.1-4, 1972.

LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **Journal of Nutrition**, v.125, p.573S-580S, 1995.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2006, 426p.

OAKENFULL, D.G. Physical properties of dietary fibre. In: Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective. (eds. S. Samman and G. Annison). **Nutrition Society Australian Occasional**, v.1, p.47–56, 1993.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.33, p.103–148, 1993.

SAS - **Statistical Analysis System**: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. **Nutrition**. 16, 289–295, 2000.

SMIRICKY, M.R., *et al.* The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2433-2441, 2002.

TWOMEY, L.N., *et al.* The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.61-69, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of soybean meal in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.121–132, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, p.88–94, 2006.

ZUO, Y., *et al.* Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

## **CAPÍTULO VI - EFEITO DA $\beta$ -MANANASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DE FONTES PROTÉICAS EM CÃES DETERMINADA POR DIFERENTES METODOLOGIAS**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) por meio da coleta total de fezes (CTF) ou dos indicadores cinza insolúvel em ácido (CIA) e fibra bruta (FB) e as características das fezes de cães alimentados com dietas contendo farinha de vísceras de aves (FVA) ou farelo de soja (FS), com ou sem enzima (0,01%  $\beta$ -mananase) (E). Foram utilizados oito cães adultos, distribuídos em quadrado latino duplo 4 x 4, com arranjo fatorial 2 x 2 x 3. Houve interação entre fonte protéica e enzima, sendo que a suplementação de  $\beta$ -mananase aumentou os CDAs e a EM (+195,3kcal/kg) e reduziu a produção de fezes apenas na dieta contendo FS. Foi observada interação entre metodologia de determinação dos CDA e fonte protéica. O indicador CIA superestimou os CDA das dietas contendo FVA, mas não diferiu dos CDA aferidos pela CTF e FB nas dietas com FS. Os cães consumindo as dietas contendo FS produziram fezes em maior volume, mais úmidas e de menor pH. A adição de 0,01% de  $\beta$ -mananase aumentou a digestibilidade e a EM de dietas contendo FS. Os resultados demonstraram que as diferentes metodologias (CTF, FB ou CIA) foram adequadas para determinação dos CDA em dietas com FS. Entretanto, a CIA superestimou os CDA de dietas contendo FVA.

Palavras-chave: Enzimas. Indicadores. Polissacarídeos não-amiláceos.

## **EFFECT OF $\beta$ -MANNANASE ON THE DIGESTIBILITY OF PROTEIN SOURCES IN DOGS DETERMINED BY DIFFERENT METHODOLOGIES**

### **Abstract**

The objective of the current study was to evaluate the apparent digestibility coefficients (ADC) by total fecal collection (TFC) or indicators acid insoluble ash (AIA) and crude fiber (CF) and fecal characteristics of dogs fed diets containing poultry meal (PM) or soybean meal (SBM) with or without enzyme (0.01%  $\beta$ -mannanase) (E). Eight dogs were distributed in Latin square (4 x 4) design, in a 2 x 2 x 3 factorial arrangement. There was an interaction between protein source and enzyme. The supplementation of  $\beta$ -mannanase increased the ADC and ME (+195.3 kcal/kg) and reduced fecal production only in the diet containing SBM. There was an interaction between method of determination of the ADC and protein source. The indicator AIA overestimated the ADC of the diets containing PM, but not differs from those ADC measured by TFC and CF diets with SBM. Dogs fed diets containing SBM produced feces in higher volume, with higher moisture content and lower pH. The addition of 0.01%  $\beta$ -mannanase increased digestibility and ME of diets containing SBM. The results showed that the different methodologies (TFC, CF or AIA) were adequate to determine the ADC in SBM diets. However, the AIA overestimates the ADC in diets containing PM.

Keywords: Enzymes. Indicators. Non-starch polysaccharides.



## 1. Introdução

As principais fontes protéicas utilizadas em alimentos secos e semi-úmidos para cães são as farinhas de co-produtos de origem animal (farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de aves - FVA, etc) e o farelo de soja (FS) (Huber et al., 1994). A combinação desses ingredientes na formulação tem permitido a ponderação entre os níveis protéicos e os macrominerais das dietas para cães.

Entretanto, a composição nutricional e a biodisponibilidade dos nutrientes das farinhas de origem animal são inconsistentes, pois são influenciadas, entre outros fatores, pelo nível de inclusão dos diferentes tecidos animais e pela temperatura e tempo de processamento da farinha (Fahey & Hussein, 1998). Já, os ingredientes protéicos de origem vegetal, embora possuam menor variação em seu valor nutricional, podem apresentar fatores antidualitativos, como por exemplo, a presença de polissacarídeos não-amiláceos solúveis (PNAs), como as  $\beta$ -mananas (12,6-16,1 g/kg) (glicomananas e galactomananas) no FS (Hsiao et al., 2006).

Os PNAs aumentam a viscosidade da digesta, prejudicando a interação entre as enzimas endógenas e os nutrientes e a difusão destes pela mucosa intestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta (Oakenfull, 1993). Ainda, esses carboidratos são altamente higroscópicos e fermentáveis no intestino grosso, gerando lactato e ácidos graxos de cadeia curta, os quais em excesso, aumentam a pressão osmótica intraluminal. Desse modo, esses fatores resultam em produção de fezes em maior volume e menos consistentes pelos cães (Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000).

Uma possível maneira de se reduzir os efeitos adversos dos PNAs seria o uso de enzimas exógenas, o qual tem demonstrado aumento do aproveitamento nutricional de dietas com alto teor de  $\beta$ -mananas em aves e suínos (Jackson et al., 2004; Kim et al., 2006; Zou et al., 2006; Li et al., 2010). Entretanto, os resultados do uso de enzimas exógenas sobre a biodisponibilidade dos nutrientes da dieta para cães ainda são inconsistentes, em virtude do restrito número de trabalhos (Twomey et al., 2003; Yamka et al., 2006).

Nesse contexto, a escolha da metodologia para determinação da digestibilidade da dieta é fundamental para verificar o grau de eficácia da suplementação enzimática. A determinação da digestibilidade pelo método tradicional da coleta total de fezes requer maior tempo de coleta e controle rigoroso da quantidade de alimento ingerido e das fezes excretadas. Enquanto que, o método

dos indicadores pode ser realizado em menor período e não depende da mensuração do ingerido e excretado (Sales & Janssens, 2003). Apesar das vantagens do último método, a composição da dieta, como nível de minerais, fibras e o uso de enzimas, pode influenciar a estimativa da digestibilidade do alimento dependendo do indicador utilizado, em virtude de alterações na taxa de passagem da digesta e interações entre o indicador e os componentes da dieta (Scott & Boldaji, 1997; Dourado et al., 2010).

Assim, considerando a importância das fontes protéicas para cães e os possíveis efeitos dos ingredientes e aditivos da dieta sobre a taxa de recuperação dos indicadores, objetivou-se avaliar a digestibilidade e a energia metabolizável, por diferentes metodologias e as características das fezes de cães alimentados com dietas contendo FVA ou FS, como principal fonte protéica, suplementadas ou não com  $\beta$ -mananase.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Animais e instalações**

Foram utilizados oito cães adultos (2,1 a 2,3 anos) da raça Beagle (quatro machos e quatro fêmeas), com peso médio de  $8,6 \pm 1,4$  kg. Os animais passaram por exame clínico prévio e foram vacinados e desverminados. Durante o ensaio de digestibilidade, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável medindo 0,7 m de comprimento x 0,6 m de altura x 0,5 m de largura. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética ao Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

### **2.2 Dietas**

Foram avaliadas quatro dietas isoprotéicas contendo FS ou FVA como principal fonte protéica, suplementadas ou não com 0,01% de  $\beta$ -mananase (1000 kMUN/g  $\beta$ -mananase, *Econase MP1000*, *AB Vista*). A composição química das fontes protéicas utilizadas e as variáveis qualitativas do processamento do FS estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química (expressa na matéria natural) das fontes protéicas e variáveis qualitativas do farelo de soja.

Composição química	Farelo de soja	Farinha de vísceras de aves
Matéria seca (%)	89,88	93,45
Proteína bruta (%)	46,30	61,23
Fibra bruta (%)	6,58	-
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	4,05	14,54
Matéria mineral (%)	6,40	16,98
Cinza insolúvel em ácido (%)	0,63	0,43
Extrativos não-nitrogenados (%)	26,56	7,25
Energia Bruta (kcal/kg)	4.256	4.868
Variáveis qualitativas		
Urease ( $\Delta$ pH)	0,05	-
Índice de proteína dispersível (%)	16,84	-

As dietas foram moídas em crivos de 0,8 mm e extrusadas em extrusora de rosca simples (*Ferraz, E-130, Ribeirão Preto, Brasil*). A qualidade do processo foi aferida por meio das mensurações da densidade dos extrusados na saída da extrusora, a qual foi considerada adequada entre 428-462 g/L. Após extrusão, as dietas foram secas em secador de tripla esteira (100-110°C), recobertas com óleo de frango e resfriadas. A adição da  $\beta$ -mananase foi realizada imediatamente após a aplicação do palatabilizante líquido, juntamente com o palatabilizante em pó. Um período de 15 dias de estabilização foi mantido antes que as dietas fossem fornecidas aos animais. As fórmulas e a composição química analisada das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 2.

## 2.2 Digestibilidade

O ensaio de digestibilidade seguiu as recomendações da AAFCO (2004), com cinco dias de adaptação às dietas e instalações e cinco dias de colheita total de fezes por período. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (7:00 horas e 15:00 horas) em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM), segundo preconizado pelo NRC (2006):  $NEM (kcal/dia) = 130 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ . A água foi fornecida *ad libitum*. Todas as fezes foram colhidas,

no mínimo duas vezes ao dia, pesadas e congeladas (-14°C) em recipientes individuais, constituindo um composto de fezes de cada animal por período de coleta.

#### *2.4 Características das fezes*

As fezes dos cães foram avaliadas a partir dos valores de matéria seca total nas fezes, produção de fezes, escore e pH fecal (2,0 g de fezes frescas, diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital). Foi avaliado o escore das fezes, sempre pelo mesmo pesquisador, por meio de pontuação variando de 1 a 5: 1: fezes líquidas; 2: fezes pastosas e sem forma; 3: fezes úmidas, macias e formadas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas, secas e consistentes; 5: fezes duras e ressecadas, produzidas em pequenos pedaços quebradiços.

#### *2.5 Análises laboratoriais*

Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C até peso constante (MS<sub>55</sub>). Após secas, as fezes e os alimentos foram moídos à 1 mm e analisados quanto à matéria seca à 105°C (MS<sub>105</sub>), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA) e matéria mineral (MM) segundo à AOAC (1995). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica. As cinzas insolúveis em ácido (CIA) foram determinadas de acordo com metodologia descrita por Van Keulen & Young (1977). Os extrativos não-nitrogenados (ENN, %) foram estimados por: 100 – (umidade% + PB% + EEA% + FB% + MM%), a matéria orgânica (MO, %) por: 100-MM% e a matéria seca original das fezes obtida por: (MS<sub>55</sub> x MS<sub>105</sub>)/100. Para o controle do processamento térmico do farelo de soja foram determinados a atividade ureásica e o índice de proteína dispersível, segundo a AOCS (1980a,b).

Tabela 2. Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Farinha de vísceras de aves	Farelo de soja
Milho	50,21	44,01
Farelo de soja	-	30,00
Farinha de vísceras de aves	37,5	13,70
Óleo de frango	6,00	6,00
Hidrolisado de fígado de aves líquido	3,00	3,00
Hidrolisado de fígado de aves pó	1,00	1,00
Celite™	1,00	1,00
Suplemento mineral-vitamínico*	0,50	0,50
Cloreto de Sódio	0,50	0,50
Antioxidante (propionato de amônio)	0,05	0,05
Antifúngico (BHT e BHA)	0,24	0,24
Composição química (% da matéria seca)		
Matéria seca	92,50	92,75
Matéria mineral	8,91	7,02
Cinza insolúvel em ácido	1,44	1,16
Proteína Bruta	28,11	28,63
Extrato etéreo em hidrólise ácida	15,62	13,50
Fibra bruta	3,59	4,46
Extrativos não-nitrogenados <sup>a</sup>	43,77	46,39
Energia Metabolizável (kcal/100g) <sup>b</sup>	411,40	394,94

\*Suplemento Mineral-vitamínico (conteúdo/kg): Vit. A – 16.900 IU, Vit. D3 – 2.340 IU, Vit. E – 104 ppm, Vit. K – 1,3 ppm, Vit. B1 – 3,9 ppm, Vit. B2 – 6,5 ppm, Ácido pantotênico – 19,5 ppm, Niacina – 32,5 ppm, Colina – 1.150,75 ppm, Zinco – 156 ppm, Ferro – 104 ppm, Cobre – 13 ppm, Iodo – 2,6 ppm, Manganês – 45,5 ppm, Selênio – 0,26 ppm.

<sup>a</sup> ENN= 100-(proteína bruta% + matéria mineral% + fibra bruta% + extrato etéreo em hidrólise ácida)

<sup>b</sup>Estimado segundo o NRC (2006)

## 2.6 Cálculos e análise estatística

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram calculados com base nos resultados laboratoriais das dietas e fezes segundo o método da coleta total de fezes (CTF) e indicadores (I):

$$CDA_{CTF} (\%) = \frac{(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado})}{(g \text{ nutriente ingerido})} \times 100$$

$$CDA_i (\%) = 100 - \left[ \frac{(\% \text{ indicador no alimento})}{(\% \text{ indicador nas fezes})} \times \frac{(\% \text{ nutriente nas fezes})}{(\% \text{ nutriente no alimento})} \right] \times 100$$

A taxa de recuperação dos indicadores foi determinada pela relação entre a quantidade de indicador ingerida e a quantidade total de indicador excretado nas fezes. A taxa de fluxo da digesta foi determinada dividindo-se a ingestão dos indicadores (g/dia) pela concentração dos indicadores nas fezes. A CIA foi corrigida para sua taxa de recuperação (CIA<sub>c</sub>) por meio da razão: (% CIA nas fezes/ % taxa de recuperação)x100.

A Energia Metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2004) para a CTF e I, sendo:

$$EM_{CTF} (\text{kcal/kg}) = \{ \text{kcal/g EB ingerida} - \text{kcal/g EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}] \} / \text{g alimento ingerido}$$

$$EM_i (\text{kcal/kg}) = \{ \text{kcal/g EB alimento} - [\text{kcal/g EB fezes} \times (\% \text{ I alimento} / \% \text{ I fezes})] \} - \{ \% \text{ PB alimento} - [\% \text{ PB fezes} \times (\% \text{ I alimento} / \% \text{ I fezes})] \} \times 1,25$$

Os resultados foram analisados de acordo com delineamento em Quadrado Latino duplo 4 x 4, com quatro tratamentos e quatro períodos, totalizando oito repetições por tratamento, em esquema fatorial 2 x 2 x 3 (fontes protéicas x adição de enzima x métodos de determinação). Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade (Shapiro-Willk) e quando atendida essa premissa foram analisados utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1996). Foi considerada diferença estatística quando o teste F da Análise de Variância (ANOVA) demonstrou diferença significativa à 5% de probabilidade. As médias obtidas para os diferentes métodos de determinação da digestibilidade foram comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade. O escore fecal foi analisado pelo teste Kruskal-Wallis, considerando 5% de probabilidade como diferença significativa.

### 3. Resultados

#### 3.1 Digestibilidade

Todos os cães consumiram totalmente as dietas ofertadas nos experimentos de digestibilidade (224g/dia), não havendo diferença de consumo para as dietas contendo FVA e FS suplementadas ou não com enzima (Tabela 3).

Houve interação entre fonte protéica e enzima ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5). A suplementação de 0,01% de  $\beta$ -mananase aumentou a digestibilidade da MS, MO, PB, EEA, ENN, EB e a EM somente da dieta contendo FS, sendo os CDA da MS e PB superiores aos da dieta com FVA ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5). Entretanto, a dieta contendo FS, sem suplementação de enzima, não diferiu quanto aos CDA da MS e PB ( $P > 0,05$ ) e apresentou os CDA da MO, EEA, ENN, EB e a EM inferiores aos da dieta contendo FVA ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5). A EM da dieta contendo FS foi acrescida em 195,3kcal/kg com a suplementação de  $\beta$ -mananase, em relação à mesma dieta sem suplementação ( $P < 0,05$ ), não diferindo da EM da dieta contendo FVA ( $P > 0,05$ ) (Tabela 5).

Em relação aos métodos de aferição da digestibilidade, foi observada interação entre método e fonte protéica, mas não entre enzima, para os CDA da MS, MO, PB, EB e para a EM ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). A CIA superestimou os CDA e a EM das frações nutricionais supracitadas para a dieta contendo FVA ( $P < 0,05$ ), enquanto a CTF e a FB não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6). Os CDA e a EM determinados pela CTF, FB e CIA não diferiram entre si para a dieta com FS ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6).

A taxa de recuperação dos indicadores para as dietas contendo FS foram:  $98,1\% \pm 2,81$  (CV= 8,9%) para a CIA e  $99,2\% \pm 3,98$  (CV= 14,1%) para a FB e para as dietas contendo FVA foram:  $105,2\% \pm 1,89$  (CV= 6,2%) para a CIA e  $101,5\% \pm 4,23$  (CV= 17,3%) para a FB. A FB resultou em maior taxa de fluxo da digesta ( $38,6 \pm 0,62\text{g}/100\text{g MS ingerida}/\text{dia}$ ), em relação à CIA ( $35,1 \pm 1,59\text{g}/100\text{g MS ingerida}/\text{dia}$ ) ( $P < 0,001$ ), independentemente da dieta ingerida ( $P = 0,859$ ). A correção da CIA para sua taxa de recuperação proporcionou valores dos CDA e EM semelhantes aos obtidos com a CTF e FB ( $P > 0,05$ ).

### 3.2 Características das fezes

A suplementação de enzimas não interferiu sobre o escore, MS e pH das fezes dos cães, não sendo observada interação significativa entre fonte protéica e enzima para essas variáveis ( $P > 0,05$ ) (Tabela 4). Entretanto, houve redução na produção fecal expressa na matéria natural dos cães alimentados com a dieta contendo FS e enzima ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5).

Em relação à fonte protéica, houve redução significativa no teor de MS, escore fecal e pH e acréscimo na quantidade de fezes na matéria natural em cães alimentados com as dietas contendo FS ( $P<0,05$ ) (Tabela 4).

Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) avaliados por diferentes metodologias e energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães alimentados com dietas contendo farinha de vísceras de aves (FVA) ou farelo de soja (FS) como principal fonte protéica, adicionadas ou não de  $\beta$ -mananase.

Fatores		MS	MO	PB	EEA	ENN	EB	EM
Enzima (E)	Com	81,7 <sup>a</sup>	86,1 <sup>a</sup>	84,7 <sup>a</sup>	93,0	90,5	86,8 <sup>a</sup>	4326,0 <sup>a</sup>
	Sem	80,4 <sup>b</sup>	84,9 <sup>b</sup>	83,2 <sup>b</sup>	92,2	90,4	85,4 <sup>b</sup>	4260,4 <sup>b</sup>
Protéico (P)	FVA	81,4	87,1 <sup>a</sup>	83,4 <sup>b</sup>	94,4 <sup>a</sup>	91,6 <sup>a</sup>	87,6 <sup>a</sup>	4369,1 <sup>a</sup>
	FS	81,2	84,4 <sup>b</sup>	84,8 <sup>a</sup>	91,3 <sup>b</sup>	89,3 <sup>b</sup>	85,5 <sup>b</sup>	4217,3 <sup>b</sup>
Método (M)	CIA	82,3 <sup>a</sup>	86,4 <sup>a</sup>	84,9 <sup>a</sup>	93,1	90,8	87,3 <sup>a</sup>	4357,4
	FB	80,5 <sup>b</sup>	85,2 <sup>b</sup>	83,3 <sup>b</sup>	92,6	89,8	86,1 <sup>b</sup>	4300,0
	CTF	80,4 <sup>b</sup>	85,1 <sup>b</sup>	83,2 <sup>b</sup>	92,5	90,1	86,0 <sup>b</sup>	4297,9
EPM		0,43	0,39	0,46	0,45	0,36	0,46	24,55
P	E	0,041	0,047	0,003	0,153	0,712	0,039	0,012
	P	0,484	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	M	0,015	0,022	0,020	0,162	0,239	0,039	0,098
	ExP	0,027	0,040	0,049	0,001	0,033	0,001	<0,001
	ExM	0,083	0,098	0,101	0,326	0,355	0,150	0,145
	PxM	<0,001	0,002	0,001	0,245	0,157	0,014	0,042
	ExPxM	0,059	0,061	0,081	0,177	0,283	0,062	0,541

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida; ENN: extrativos não-nitrogenados; EB: energia bruta; EPM: erro padrão da média; P: probabilidade; CIA: cinzas insolúveis em ácido; CTF: coleta total de fezes; FB: fibra bruta.

<sup>a,b</sup>Médias na mesma coluna com letras distintas diferem pelo teste F ( $P<0,05$ ) (Enzima e Protéico) ou Tukey ( $P<0,05$ ) (Método).



Tabela 4. Características das fezes de cães alimentados com dietas contendo farinha de vísceras de aves (FVA) ou farelo de soja (FS), como principal fonte protéica, suplementadas ou não com  $\beta$ -mananase.

		Matéria seca (%)	Escore	pH	Fezes*
Enzima (E)	Com	35,5	3,5	6,61	0,18
	Sem	35,4	3,4	6,72	0,19
Protéico (P)	FVA	41,9	3,9 <sup>a</sup>	6,89 <sup>a</sup>	0,16 <sup>b</sup>
	FS	29,1	3,0 <sup>b</sup>	6,41 <sup>b</sup>	0,21 <sup>a</sup>
EPM		1,39	0,11	0,068	0,007
	E	0,976	0,549	0,389	0,453
Probabilidades	P	<0,001	<0,001	0,002	<0,001
	E x P	0,638	-	0,671	0,021

EPM: erro padrão da média. \*Produção de fezes na matéria natural (g)/matéria seca ingerida (g)/dia.

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras distintas diferem pelo teste F ( $P < 0,05$ ) ou medianas pelo teste Kruskal-Wallis (escore) ( $P < 0,05$ ).

Tabela 5. Interação entre fonte protéica e  $\beta$ -mananase sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %), energia metabolizável (kcal/kg) e produção de fezes na matéria natural (MN) em cães.

CDA	Enzima	Fonte protéica		EPM
		FVA	FS	
Matéria seca	Com	79,7 <sup>b</sup>	82,5 <sup>Aa</sup>	0,43
	Sem	79,9	78,8 <sup>B</sup>	0,42
Matéria orgânica	Com	85,9	85,5 <sup>A</sup>	0,38
	Sem	86,1 <sup>a</sup>	82,5 <sup>Bb</sup>	0,39
Proteína bruta	Com	82,3 <sup>b</sup>	85,9 <sup>Aa</sup>	0,43
	Sem	81,5	82,5 <sup>B</sup>	0,40
Extrato etéreo hidrólise ácida	Com	94,3 <sup>a</sup>	92,2 <sup>Ab</sup>	0,38
	Sem	93,9 <sup>a</sup>	89,7 <sup>Bb</sup>	0,39
Extrativos não nitrogenados	Com	90,7	90,0 <sup>A</sup>	0,43
	Sem	91,1 <sup>a</sup>	88,0 <sup>Bb</sup>	0,42
Energia bruta	Com	86,7	86,9 <sup>A</sup>	0,36
	Sem	86,6 <sup>a</sup>	83,5 <sup>Bb</sup>	0,37
Energia metabolizável	Com	4337,0	4315,0 <sup>A</sup>	22,84
	Sem	4401,2 <sup>a</sup>	4119,7 <sup>Bb</sup>	25,73
Fezes (g MN/g matéria seca ingerida/dia)	Com	0,16 <sup>b</sup>	0,20 <sup>Ba</sup>	0,021
	Sem	0,15 <sup>b</sup>	0,23 <sup>Aa</sup>	0,018

FVA: farinha de vísceras de aves; FS: farelo de soja.

<sup>A,B</sup>Médias na mesma coluna com letras maiúsculas distintas diferem pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras minúsculas distintas diferem pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Tabela 6. Interação entre fonte protéica e métodos de determinação da digestibilidade sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) em cães.

CDA	Método	Fonte protéica		EPM
		FVA	FS	
Matéria seca	CIA	83,1 <sup>Aa</sup>	81,5 <sup>b</sup>	0,40
	CIAC	79,8 <sup>B</sup>	80,8	0,31
	FB	79,7 <sup>B</sup>	81,3	0,75
	CTF	79,8 <sup>B</sup>	80,8	0,40
Matéria orgânica	CIA	88,3 <sup>Aa</sup>	84,6 <sup>b</sup>	0,38
	CIAC	86,0 <sup>B</sup>	84,1	0,36
	FB	85,9 <sup>B</sup>	84,5	0,55
	CTF	85,9 <sup>B</sup>	84,3	0,36
Proteína bruta	CIA	84,8 <sup>A</sup>	84,9	0,43
	CIAC	81,9 <sup>Bb</sup>	84,3 <sup>a</sup>	0,38
	FB	81,9 <sup>Bb</sup>	84,5 <sup>a</sup>	0,72
	CTF	81,9 <sup>Bb</sup>	84,3 <sup>a</sup>	0,43
Energia bruta	CIA	88,7 <sup>Aa</sup>	85,8 <sup>b</sup>	0,38
	CIAC	86,5 <sup>B</sup>	85,3	0,35
	FB	86,4 <sup>B</sup>	85,7	0,56
	CTF	86,5 <sup>B</sup>	85,3	0,38
EM	CIA	4460,3 <sup>Aa</sup>	4254,5 <sup>b</sup>	24,98
	CIAC	4349,8 <sup>Ba</sup>	4225,9 <sup>b</sup>	24,51
	FB	4346,1 <sup>Ba</sup>	4249,6 <sup>b</sup>	32,13
	CTF	4369,2 <sup>Ba</sup>	4230,7 <sup>b</sup>	23,67

FVA: farinha de vísceras de aves; FS: farelo de soja; CIA: cinzas insolúveis em ácido; CIAC; cinzas insolúveis em ácido corrigida para taxa de recuperação; CTF: coleta total de fezes; FB: fibra bruta. EPM: erro padrão da média

<sup>A,B</sup>Médias na mesma coluna com letras maiúsculas distintas diferem pelo teste F (P<0,05).

<sup>a,b</sup>Médias na mesma linha com letras minúsculas distintas diferem pelo teste F (P<0,05).

## 4. Discussão

### 4.1 Digestibilidade

As  $\beta$ -1,4-mananases são endohidrolases produzidas por bactérias e leveduras, como o *Bacillus subtilis* (Chen et al., 2007) e a *Pichia pastoris* (Zhang et al., 2006). Essas enzimas clivam as ligações 1,4- $\beta$ -D mananas das cadeias das glicomananas e galactomananas, liberando moléculas menores (McCleary & Matheson, 1986), o que reduz a viscosidade no intestino (Bedford, 1993). Desse modo, permite maior atuação das enzimas digestivas sobre os nutrientes, bem como maior absorção destes pelo epitélio intestinal (Choct & Annison, 1992).

Melhorias na digestibilidade de dietas suplementadas com enzimas exógenas também são relatadas em trabalhos realizados em aves e suínos alimentados com dietas contendo FS. Kim et al. (2006) relataram aumento na digestibilidade da MS, aminoácidos e energia de dietas à base de milho e FS contendo 0,05% de um *blend* enzimático ( $\alpha$ -1,6-galactosidase,  $\beta$ -1,4- mananase e  $\beta$ -1,4- manosidase) em suínos. De modo semelhante, Li et al. (2010) também relataram aumento no CDA da PB e na EM (+119,5 kcal/kg) em frangos suplementados com 0,2% de  $\beta$ -1,4- mananase, sendo o incremento de EM obtido próximo ao encontrado no presente estudo (195,3kcal/kg).

Apesar disso, os poucos estudos em cães com enzimas exógenas não relatam melhoria na digestibilidade, como o desenvolvido por Twomey et al. (2003), com um *blend* enzimático composto por xilanase,  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase, em dietas à base de milho ou sorgo e Yamka et al (2006), avaliando uma dieta contendo 30% de FS com 0,50% de  $\beta$ -mananase.

Em relação à digestibilidade das fontes protéicas avaliadas, os resultados obtidos corroboram com outros estudos em cães, com valores dos CDA da proteína bruta de dietas, nas quais o FS ou a FVA foram a principal fonte protéica, variando entre 80,3 à 86,3%, para o FS e entre 76,9 à 86,9%, para a FVA (Zuo et al., 1996; Clapper et al., 2001; Carciofi et al., 2006; Yamka et al., 2006). A alta digestibilidade da proteína bruta do FS, superior à obtida na dieta contendo FVA, demonstra que este ingrediente é bem aproveitado pelos cães, podendo enriquecer as formulações comerciais, principalmente quando associado às fontes protéicas de origem animal, para maior adequação dos aminoácidos essenciais, principalmente metionina e cistina.

A diferença na digestibilidade da proteína da FVA observada entre os estudos pode ser atribuída às variações na composição e processamento desse ingrediente. A FVA pode apresentar diferentes proporções de cabeça, pescoço, pés, dorso, intestinos e a inclusão indevida de penas. Além disso, variáveis como temperatura, pressão e tempo de processamento, também podem comprometer a qualidade do produto, em virtude da carbonização da matéria orgânica e da desnaturação de aminoácidos (Fahey & Hussein, 1998; Johnson et al., 1998; Shirley & Parsons, 2000). Fato este demonstrado por Johnson et al. (1998), os quais avaliando diferentes temperaturas (110 e 145°C) de processamento de farinhas de origem animal, relataram redução na digestibilidade dos aminoácidos totais nas farinhas processadas em maior temperatura (84,0% para 75,2%)

Apesar da alta digestibilidade da proteína do FS, é importante verificar o nível de inclusão mais adequado deste, de modo a não prejudicar a qualidade das fezes produzidas e a digestibilidade de outras frações nutricionais da dieta. Como relatado por Yamka et al. (2003), em estudo com crescentes níveis de inclusão de FS (15,0 a 46,1%), no qual, embora não tenha ocorrido redução na digestibilidade da PB, houve redução linear na digestibilidade da MS com o aumento de FS na dieta.

No presente estudo, o FS não reduziu a digestibilidade da MS e PB da dieta, entretanto houve redução na digestibilidade da MO, EEA, EB e na EM da dieta, quando esta não foi suplementada com  $\beta$ -mananase. Segundo Eastwood (1992) as fibras podem reduzir a digestibilidade da gordura e, por conseguinte, da energia, por se ligarem ou formar barreira física ao redor desta, dificultando a ação dos sais biliares e lipases sobre os lipídios. Desse modo, a utilização de  $\beta$ -mananase em dietas contendo até 30% de FS permite a inclusão desse ingrediente sem que haja comprometimento da digestibilidade dos lipídeos e energia da dieta.

O uso dos indicadores FB e CIA se mostraram adequados na predição da digestibilidade das frações nutricionais da dieta contendo FS, com taxas de recuperação próximas a 100% ( $98,1\% \pm 2,81$  para a CIA e  $99,2\% \pm 3,98$  para a FB). Entretanto, a CIA superestimou os CDA da dieta contendo FVA (taxa de recuperação de  $105,2\% \pm 1,89$  contra  $101,5\% \pm 4,23$  para a FB). Outros estudos corroboram os resultados obtidos, relatando que a CIA superestimou a digestibilidade das dietas (Moniello et al., 2001, Stein et al., 2006, Leão et al., 2008).

O fato da CIA ter superestimado a digestibilidade da dieta contendo FVA pode ter ocorrido pela incompleta solubilização de minerais solúveis em HCl, como o

cálcio e o fósforo nas fezes, superestimando o teor de CIA nas fezes dos cães alimentados com a dieta contendo FVA como principal fonte protéica. Apesar disso, Sales & Jansen (2003) citam que o método de Van Keulen & Young (1977), com duas queimas da amostra na mufla, com tratamento de HCl entre as queimas, como o realizado neste estudo, é o mais adequado para se evitar superestimativa da digestibilidade da dieta. Desse modo, deve-se verificar a metodologia mais adequada para determinação da CIA, particularmente em amostras com alto teor de resíduo mineral, para se evitar que minerais solúveis em HCl sejam erroneamente contabilizados como CIA.

Visando minimizar o erro na determinação da digestibilidade e EM da dieta com FVA, os valores de CIA foram corrigidos para 100% de recuperação. Embora essa prática não seja usual, uma vez que depende da contabilização exata da quantidade de alimento consumida e das fezes excretadas, tirando o propósito do método dos indicadores, pode ser utilizada quando conveniente para corrigir os valores de digestibilidade obtidos, como relatado por Dourado et al. (2010).

A FB foi efetiva na determinação dos CDA de todas as dietas, embora sua taxa de recuperação tenha apresentado maior coeficiente de variação que a da CIA, com valores mínimos de recuperação de 73,4% vs. 84,9% e máximos de 112,4% vs. 109,4% para a FB e CIA, respectivamente. Além disso, a FB resultou nos maiores EPMS obtidos para os CDAs e EM, em relação aos dados obtidos com a CIA e a CTF, os quais apresentaram EPMS semelhantes.

A fração FB corresponde ao resíduo insolúvel após fervura da amostra com ácido e álcali, o qual é composto basicamente por celulose, lignina e parte da hemicelulose insolúvel (AOAC, 1995). Os cães não produzem enzimas para digerir os carboidratos estruturais da parede celular, sendo que a fração fibrosa insolúvel sofre mínima alteração em seu sistema gastrointestinal (NRC, 2006), com digestibilidade aparente da celulose variando de -0,2 à 1,9% nessa espécie (Lewis et al., 1994). A taxa de recuperação da FB próxima a 100% obtida confirma a incapacidade dos cães em digerir essa fração.

Estudo desenvolvido por Carciofi et al. (1998) também demonstrou que a FB pode ser utilizada para predizer a digestibilidade dos alimentos em gatos, não diferindo dos resultados obtidos com a coleta total de fezes. Os autores ainda relatam que variações nos CDA obtidas por meio da FB podem estar relacionadas com os erros analíticos inerentes à sua determinação laboratorial, as quais, no

presente trabalho foram superiores aos obtidos com a CIA. Desse modo, afere-se que a CIA pode ser um método de predição da digestibilidade mais preciso e exato que a FB, em dietas contendo baixo teor de minerais solúveis em HCl.

#### *4.2 Características das fezes*

O aumento no teor de fibras da dieta, com a inclusão de FS, esultou em redução no teor de MS e escore fecal. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Yamka et al. (2003), os quais também relataram redução linear no teor de MS das fezes e aumento na quantidade de fezes excretadas com a inclusão de níveis crescentes de FS na dieta de cães.

Embora não tenha alterado a consistência das fezes, a suplementação de 0,01% de  $\beta$ -mananase na dieta contendo FS reduziu a quantidade de fezes produzidas, provavelmente pelo aumento na digestibilidade da dieta, como discutido por outros autores (McCleary & Matheson, 1986; Choct & Annison, 1992; Bedford, 1993). Em contrapartida, Yamka et al (2006) não observaram melhorias na consistência e volume de fezes produzidas por cães alimentados com dieta contendo 30% de FS com 0,50% de  $\beta$ -mananase.

Os oligossacarídeos e os PNAs presentes no farelo de soja são altamente fermentáveis no intestino grosso, produzindo lactato e ácidos graxos de cadeia curta. Assim, há aumento da pressão osmótica no lúmen intestinal, acarretando em maior volume e menor consistência das fezes dos cães (Roberfroid, 1993; Silvio et al., 2000). A alta fermentação dos carboidratos não digeridos da soja pela microbiota do intestino grosso pode ser confirmada pelo menor pH das fezes dos cães alimentados com as dietas contendo FS, em relação à dieta com FVA. Os efeitos adversos dos carboidratos não digestíveis da soja sobre a qualidade das fezes dos cães são um ponto importante a ser melhor investigado, uma vez que é um dos maiores limitantes do uso da soja em alimentos comerciais para cães.

### **5. Conclusões**

Embora não altere a consistência das fezes, a suplementação de 0,01% de  $\beta$ -mananase na dieta contendo FS reduz a quantidade de fezes produzidas e aumenta a disponibilidade da proteína e energia da dieta, podendo seu uso ser considerado

na prática. A digestibilidade das dietas para cães pode ser aferida por meio dos indicadores FB e CIA. A inclusão de 30% de farelo de soja resulta na produção de fezes menos consistentes pelos cães.

## 6. Referências

- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Urease Activity. Official Method Ba 9-58. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980a.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. Protein Dispersibility Index. Official Method Ba 10-65. **American Oil Chemists Society**, Champaign, IL, 1980b.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.
- BEDFORD, M. Mode of action of feed enzymes. **Journal of Applied Poultry Research**, v.2, p.85–92, 1993.
- CARCIOFI, A.C., *et al.* Uso de indicadores internos na avaliação da digestibilidade aparente de alimentos para gatos – comparação de métodos. **Ciência Rural**, v.28, n.2, p.299-302, 1998.
- CARCIOFI, A.C., *et al.* Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.754-760, 2006.
- CHEN, X.L., *et al.* Cloning, functional expression and characterization of *Aspergillus sulphurous*  $\beta$ -mannanase in *Pichia pastoris*. **Journal of Biotechnology**, v.128, p.452–461, 2007.
- CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, v.33, p.821–834, 1992.
- CLAPPER, G. M., *et al.* Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected soybean protein inclusion in extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1523-1532, 2001.
- DOURADO, L.R.B., *et al.* Poultry Feed Metabolizable Energy Determination using Total or Partial Excreta Collection Methods. **ACTA**, v.12, n.2, p.129-132, 2010.
- EASTWOOD, M.A. The physiological effect of dietary fiber: An update. **Annual Revision Nutrition**, v.12, p.19–35, 1992.



FAHEY JR., G.C.; HUSSEIN, H.S. The nutritional value of alternative raw materials. **Petfood Industry**, Maio/Junho, p.24–34, 1998.

HSIAO, H.Y., *et al.* Levels of  $\beta$ -mannan in soybean meal. **Poultry Science**, v.85, p.1430–1432, 2006.

HUBER, T.L., *et al.* Nutrient digestion of dry dog foods containing plant and animal proteins. **Canine Practice**, v.19, p.11–13, 1994.

JACKSON, M.E., *et al.* A dose–response study with the feed enzyme  $\beta$ -mannanase in broilers provided with corn–soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters. **Poultry Science**, v.83, p.1992–1996, 2004.

JOHNSON, M.L., *et al.* Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.76, n.4, p.1112–1122, 1998.

KIM, S.W., *et al.* Use of carbohydrases in corn-soybean meal based grower-finisher pig diets. **Animal Research**, v.55, p.563–578, 2006.

LEÃO, V.P.C., *et al.* Cinza insolúvel em ácido em ensaio de digestibilidade em ovinos alimentados com cana-de-açúcar e feno da parte aérea da mandioca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.480–487, 2008.

LEWIS, L.D., *et al.* Stoll characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dog fed different fiber sources. **Journal of Nutrition**, v.124, p.2716S–2718S, 1994.

LI, Y., *et al.* Effects of  $\beta$ -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, p.59–67, 2010.

MCCLEARY, B.V., MATHESON, N.K. Enzymic analysis of polysaccharide structure. **Advances in Carbohydrate Chemical Biochemistry**, v.44, p.147–176, 1986.

MONIELLO, G., *et al.* Digestion capabilities and estimation of metabolisable energy of diets in relation to their chemical components in Barbary partridge (*Alectoris Barbara*). **Rivista Avicoltura**, v.70, p.37–40, 2001.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2006, 426p.

OAKENFULL, D.G. Physical properties of dietary fibre. In: *Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective*. (eds. S. Samman and G. Annison). **Nutrition Society Australian Occasional**, v.1, p.47–56, 1993.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.33, p.103–148, 1993.

SALES, J.; JANSSENS, G. The use of markers to determine energy metabolizability and nutrient digestibility in avian species. **World's Poultry Science**, v.59, p.314-327, 2003.

SAS - **Statistical Analysis System**: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

SCOTT, T.A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poultry Science**, v.76, p.594-598, 1997.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutrition*. 16, 289–295, 2000.

SHIRLEY, R.B., PARSONS, C.M. Effect of pressure processing on amino acids digestibility of meat and bone meal for poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1775-1781, 2000.

STEIN, R.B.S., *et al.* Estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca por meio de indicadores internos em eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.504-511, 2006.

TWOMEY, L.N., *et al.* The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. *Animal Feed Science and Technology*, v.108, p.61-69, 2003.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B.A. Evaluation of acidinsoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v.44, p.282-287, 1977.

YAMKA, R.M., *et al.* Evaluation of soybean meal in canine foods. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.121–132, 2003.

YAMKA, R.M., *et al.* In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, p.88–94, 2006.

ZHANG, Q., *et al.* Cloning, sequence analysis, and heterologous expression of  $\beta$ -mannanase gene from *Bacillus subtilis* Z-2. **Molecular Biology**, v.40, p.368–374, 2006.

ZOU, X.T. *et al.* Effect of  $\beta$ -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. **Poultry Science**, v.85, p.2176–2179, 2006.

ZUO, Y., *et al.* Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

## Considerações finais

Características como docilidade e companheirismo têm feito com que os cães domésticos tenham ganhado cada vez mais lugar na sociedade, suprimindo carências e contribuindo para amenizar situações estressantes, tornando a espécie um dos principais animais de estimação da humanidade. Em virtude disso, surge a necessidade do desenvolvimento de alimentos que, além de nutricionalmente balanceados, promovam a saúde e a longevidade dos cães e resultem na produção de fezes mais consistentes e em menor volume por estes. Para tanto, há demanda por pesquisas sobre o valor nutricional de ingredientes para a espécie, considerando sua digestibilidade e seus efeitos na aceitabilidade da dieta e nas características das fezes de cães de diferentes idades. Ainda, são necessárias pesquisas sobre aditivos que promovam melhoria do aproveitamento dos nutrientes das dietas e sobre metodologias de aferição da digestibilidade de ingredientes e dietas para cães.

Por serem animais basicamente carnívoros, as fontes protéicas são um dos ingredientes mais importantes na formulação de dietas para cães. Entretanto, a escassez de informações específicas sobre o teor de nutrientes digestíveis de alimentos protéicos à espécie tem limitado o uso de determinadas matérias-primas em sua alimentação. Esse fato é relevante, principalmente, ao considerar fontes protéicas de origem vegetal, como os derivados de soja, uma vez que equivocadamente se postulava que as proteínas de ingredientes de origem animal eram, em sua maioria, mais digestíveis que as de origem vegetal.

Considerando a série de estudos realizados no presente trabalho, observou-se que, ao contrário do pré-conceituado, os derivados protéicos de soja, dependendo do processamento que são submetidos, apresentam digestibilidade da proteína semelhante ou superior à proteína de farinhas de co-produtos de origem animal. Isso é observado considerando o CDA da PB médio de 81,2% para as dietas contendo farinha de vísceras de aves, como principal fonte protéica, contra o CDA da PB médio de 87,1% para os derivados protéicos de soja estudados. Na Tabela 1 está apresentada uma compilação da composição química, coeficientes de digestibilidade e da metabolização da energia, energia metabolizável e valores de nutrientes digestíveis dos derivados de soja estudados.

Tabela 1. Composição química, coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e de metabolização da energia (CME), energia metabolizável (EM) e nutrientes digestíveis de derivados protéicos de soja para cães adultos.

	FDS	FS	SM	SGT	SGC	FSH	CPS60	CPS70	CPSH70	PIS
UM (%)	6,1	10,8	4,3	10,3	10,0	9,77	8,89	8,27	9,31	4,41
% na Matéria seca										
PB	52,4	46,7	40,8	37,6	37,6	55,6	61,9	68,7	69,2	89,8
CDAPB	85,1	85,2	88,4	84,7	78,9	89,8	83,9	85,2	90,6	98,8
PD	44,6	39,8	36,1	31,8	29,7	49,9	51,9	58,5	62,7	88,7
EEA	2,6	4,1	21,5	23,4	23,1	3,66	2,15	1,85	1,98	3,69
CDAEE	84,3	84,3	96,8	96,6	96,4	86,6	84,5	85,4	87,9	81,7
EED	2,1	3,5	20,8	22,6	22,3	3,2	1,8	1,6	1,7	3,0
FB	1,6	5,3	1,5	4,1	4,0	5,61	4,52	4,64	4,79	0,06
FDN	8,9	14,7	13,9	10,6	10,4	17,08	27,14	28,20	29,25	3,22
FDA	3,5	7,5	4,3	9,4	9,1	8,53	8,50	8,78	8,74	0,85
ENN	37,4	37,7	31,6	30,1	30,3	28,86	25,00	18,74	17,83	1,94
MM	6,1	6,1	4,7	4,9	4,9	6,26	6,45	6,05	6,18	4,51
Ca	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3	0,54	0,66	0,52	0,58	0,33
P	0,9	0,6	0,6	0,6	0,6	0,68	0,90	0,91	0,92	0,71
kcal/100g de matéria seca										
EB	466,8	481,9	577,7	568,4	567,1	489,9	493,6	494,6	494,8	554,9
CDAEB %	79,8	79,7	88,8	81,7	79,8	87,2	80,0	83,9	84,9	93,4
ED	372,5	407,5	512,9	464,4	451,4	427,2	394,9	419,9	420,0	518,2
EM	363,9	407,2	511,2	458,5	445,5	381,6	338,2	343,0	345,7	507,9
CME %	77,9	84,5	88,5	80,7	78,6	77,9	68,5	69,3	69,9	91,5

UM: umidade; PB: proteína bruta; PD: proteína digestível; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida; EED: extrato etéreo em hidrólise ácida digestível; FB: fibra bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; ENN: extrativos não nitrogenados; MM: matéria mineral; Ca: cálcio; P: fósforo; EB: energia bruta; ED: energia digestível.

FDS: farinha desengordurada de soja; FS: farelo de soja com 42% PB; SM: soja micronizada; SGT: soja grão tostado; SGC: soja grão cru; FSH: farelo de soja hipro com 50% PB; CPS60: concentrado protéico de soja com 60% PB; CPS70: CPS com 70% PB; CPSH70: CPS hidrolisado com 70% PB; PIS: proteína isolada de soja.

Conclui-se, portanto, que derivados protéicos de soja apresentam alto teor de proteína digestível e de lipídeos e energia digestíveis (sojas grão e micronizada), demonstrando que estes ingredientes são bem aproveitados pelos cães. Desse modo, ponderando as necessidades nutricionais de proteínas e lipídeos reportadas pelo NRC (2006) para esses animais, afere-se que os derivados protéicos de soja apresentam alto valor nutricional para a espécie canina, podendo ser utilizados para cães em crescimento e adultos. Além disso, uma vez associados às farinhas de origem animal, permitem fornecimento dos níveis protéicos e aminoacídicos desejados, simultaneamente à moderação dos níveis de macrominerais (principalmente cálcio) nas formulações, devido à alta relação proteína bruta: matéria mineral destes, ao contrário das farinhas de origem animal.

Entretanto, cabe ressaltar que, alguns derivados de soja devem ser adicionados em níveis moderados na formulação, pois podem prejudicar a qualidade dos extrusados formados e resultar na produção de fezes menos consistentes pelos cães. Derivados de soja com alto teor de lipídios, como o grão de soja e a soja micronizada, quando utilizados em formulações processadas em extrusora de rosca simples, podem resultar em lubrificação do canhão da extrusora, reduzindo a pressão de cisalhamento e a temperatura no canhão, bem como prejudicar a adsorção de água pelos grânulos de amido. Em decorrência desses fatores, há comprometimento da gelatinização do amido, resultando em extrusados pouco expandidos, mais densos e quebradiços. A redução na gelatinização do amido, além de prejudicar a qualidade do extrusado, também pode deprimir a digestibilidade do amido da dieta, reduzindo seu valor nutricional aos animais.

Além do comprometimento da gelatinização do amido, o alto teor de lipídios do grão de soja, aliado ao curto tempo de permanência do alimento no canhão da extrusora, prejudicam a completa inativação dos inibidores de proteases do grão cru de soja. Assim, é importante que os derivados de soja não desengordurados sejam termicamente tratados antes da extrusão da dieta, para completa inativação dos inibidores de proteases, já que no presente trabalho, não foi constatada completa inativação dos inibidores de tripsina na dieta contendo grão cru de soja.

Em contrapartida, a PIS, a qual é um derivado de soja desengordurado com alta atividade ureásica (1,52  $\Delta$ pH), apresentou a maior digestibilidade da proteína, dentre os ingredientes avaliados. Embora não tenha sido analisada a atividade inibitória de tripsina na dieta contendo PIS, a baixa atividade ureásica da dieta

extrusada contendo 30% de PIS (0,03  $\Delta$ pH), aliada à alta digestibilidade protéica desta, indicam que a extrusão pode ter desnaturado eficientemente os inibidores de proteases da soja, provavelmente em virtude do baixo teor de lipídios dessa dieta. Assim, considerando o teor de lipídios das dietas fareladas contendo 30% de derivados de soja, afere-se que dietas contendo acima de 7% de lipídios podem comprometer o processo de extrusão em rosca simples.

Apesar da importância do processamento térmico da soja para inativação dos fatores antinutricionais termolábeis, cuidados devem ser tomados, de modo a desativar os inibidores de proteases, sem comprometimento excessivo da solubilidade da proteína. Esse fato é importante, considerando que, em ambos os casos, a digestibilidade da fração protéica da soja é comprometida. Neste trabalho, os resultados obtidos nos experimentos comprovaram essa afirmação, encontrando-se correlação positiva entre solubilidade e digestibilidade da proteína.

Deve-se atentar ainda que, além da insolubilização protéica causada pelo aquecimento, a insolubilização resultante do tratamento com solução de etanol também deprime a digestibilidade protéica da soja. Desse modo, o processo de produção de concentrados protéicos de soja precisa ser melhor estudado, devendo se considerar a produção desses derivados a partir de flocos brancos de soja e não de farelos ou farinhas já tostadas, o que deprime ainda mais a solubilidade protéica. Apesar disso, o processo de hidrólise enzimática após o tratamento com etanol se mostrou eficiente em aumentar a solubilidade protéica do concentrado e, por conseguinte, sua digestibilidade, podendo ser uma medida eficiente para melhorar o seu valor nutricional para cães.

Outro ponto importante a ser considerado é o fato dos derivados de soja serem submetidos à alta temperatura e pressão pelo processo de extrusão da dieta, alterando novamente as propriedades físico-químicas das proteínas. Esse processo pode aumentar a digestibilidade da fração protéica, pela desnaturação das estruturas quaternárias e terciárias das proteínas de reserva da soja, como a glicinina e a  $\beta$ -conglucina, tornando-as mais acessíveis à ação enzimática, reduzindo seu efeito antinutricional e pela desnaturação de fatores antinutricionais termolábeis, como a lectina e inibidores de proteases. Além disso, a extrusão pode aumentar a digestibilidade do amido, em função da sua gelatinização, bem como dos lipídios, pelo rompimento dos lipossomos dos cotilédones.

Em contrapartida, se a extrusão for realizada de modo inadequado, ou se os derivados de soja tiverem sido previamente superprocessados, o processo de extrusão da dieta pode comprometer ainda mais a disponibilidade das proteínas ao organismo. Isso pode ocorrer pela formação de compostos indigestíveis, como a lisinoalanina, reação de Maillard, formação de pontes dissulfeto e interações não-covalentes entre cadeias polipeptídicas. Assim, os efeitos da extrusão precisam ser considerados na avaliação da qualidade nutricional de ingredientes para cães, embora seja difícil se isolar os efeitos do processamento do grão de soja dos efeitos do processo de extrusão da dieta.

Deve-se optar, portanto, pela utilização de derivados protéicos de soja desengordurados que passaram por tratamento térmico brando (alta solubilidade protéica e atividade ureásica), de modo a completar a desnaturação dos fatores antinutricionais durante a extrusão, sem comprometimento excessivo da solubilidade protéica. Já, derivados protéicos não desengordurados devem ser adicionados em menor nível de inclusão e/ou passarem por tratamento térmico que reduza a atividade ureásica a níveis considerados seguros ( $<0,3\Delta\text{pH}$ ), para garantir a completa inativação dos fatores antinutricionais termolábeis.

Cabe ressaltar ainda que, a determinação da urease, por ser uma enzima inativada em temperaturas menores que o inibidor de tripsina e se tratar de um método não linear, deve ser utilizada com cautela na prática, para se evitar o uso de alimentos com inibidores de proteases ativos na nutrição de cães. Assim, sempre que possível deve se optar pela análise direta da atividade inibitória de tripsina.

Além dos inibidores de proteases, a presença de carboidratos indigestíveis, como oligossacarídeos e PNA, na soja também pode deprimir a digestibilidade, não apenas da proteína, mas também dos demais nutrientes da dieta. Além disso, podem resultar em flatulência e na produção de fezes em maior volume e menos consistentes pelos cães. Por serem termorresistentes, esses carboidratos são de difícil remoção, necessitando de processamentos específicos para essa finalidade ou da utilização de carboidrases para reduzir os efeitos adversos destes no sistema gastrointestinal dos cães.

Observou-se nos estudos desenvolvidos que os oligossacarídeos da soja (rafinose, estaquiose e verbascose), nos níveis contidos nos farelos utilizados, não interferem na digestibilidade da dieta, mas são um dos principais responsáveis pelo aumento da produção de gás no intestino dos cães. Assim, apenas a remoção dos

açúcares da soja não é suficiente para aumentar a digestibilidade e melhorar as características das fezes dos cães. Também é necessária a extração dos PNA insolúveis em etanol 80%, para aumentar a disponibilidade da matéria seca, proteína e energia da soja e promover a excreção de fezes mais consistentes pelos cães. Esse fato foi constatado pela utilização da PIS, demonstrando que a proteína da soja é altamente digestível, desde que bem processada e sem interferência dos PNA.

No entanto, em virtude do alto valor agregado da PIS, esta pode ser inviável em formulações de baixo custo para cães. Para aumentar a digestibilidade de dietas contendo soja, poderia, portanto, se adotar a suplementação de carboidrases em associação ao farelo de soja. Nos estudos conduzidos foi demonstrado que, principalmente, a  $\beta$ -mananase é efetiva em aumentar a digestibilidade de dietas contendo farelo de soja.

Porém, cabe citar, que, embora haja melhoria no aproveitamento da dieta, o uso de carboidrases não reduz o teor de umidade das fezes dos cães, o qual é o principal limitante da inclusão de derivados de soja na alimentação de animais de companhia. Para melhoria da consistência fecal é necessária a remoção dos PNA da soja, não apenas os contidos na casca (mais fácil remoção pelo descascamento), mas também os presentes nos cotilédones, os quais são significativamente removidos apenas com o isolamento da fração protéica da soja.

É possível que a falta de efeito das carboidrases sobre a consistência fecal dos cães seja porque, embora haja redução da capacidade de retenção de água dos PNAs pela hidrólise desses polímeros, as moléculas menores liberadas dos PNAs podem ser rapidamente fermentáveis no intestino grosso. Isso resulta em aumento da pressão osmótica intraluminal, aumentando a taxa de passagem e reduzindo a absorção de água pelo intestino, a qual será eliminada em maior quantidade nas fezes. Nos estudos realizados, a alta fermentação das moléculas resultantes da hidrólise dos PNAs pode ser aferida pela tendência à redução do pH fecal de cães alimentados com carboidrases, entretanto esse fato precisa ser melhor investigado para validação dessa hipótese.

Nesse sentido, mais estudos são necessários para minimizar os efeitos adversos dos carboidratos da soja sobre as fezes dos cães, uma vez que acima de 15% de inclusão de farelo de soja convencional ou Hipro, há redução significativa na consistência fecal desses animais. Por outro lado, foi observado nos estudos que, os oligossacarídeos e PNAs da soja podem apresentar efeito prebiótico aos cães, uma



vez que podem reduzir a produção de amônia no intestino. Isso indica provável inibição, pela redução do pH do lúmen intestinal, do desenvolvimento de microrganismos proteolíticos patogênicos, como do gênero *Clostridium*.

Assim, métodos de extração dos carboidratos da soja e o uso de enzimas exógenas e aditivos para adsorção da umidade das fezes, como aluminossilicatos, devem ser melhor estudados. Além disso, é necessária maior elucidação sobre os efeitos das enzimas exógenas sobre a hidrólise dos PNAs no sistema gastrointestinal dos cães, principalmente quanto aos produtos resultantes, seu valor nutricional para o animal e como substrato à microbiota intestinal.

Outra característica interessante observada com o uso de carboidrases se deve ao seu efeito em aumentar a palatabilidade de dietas contendo farelo de soja. É possível, portanto, que as carboidrases comecem a atuar no alimento, liberando compostos aromáticos de baixo peso molecular, tornando o alimento mais atrativo aos cães. Mas esse fato também merece ser melhor investigado.

Considerando os fatores supracitados que influenciam na digestibilidade da proteína da soja, as variáveis que entrariam em um modelo linear para prever os CDA da PB de derivados de soja desengordurados, pelo método Stepwise, seriam:  $CDAPB = 82,2344 - 0,0699*FDN + 0,3850*IPD$  ( $R^2=88,79$ ). Já, os CDA da PB de derivados de soja não desengordurados, como o grão e a soja micronizada, poderiam ser estimados pela equação:  $CDAPB = 74,0749 + 1,1409*FDN - 0,1529*IPD$  ( $R^2=87,61$ ).

O coeficiente de determinação mostra que a equação proposta para estimar os CDA da PB de derivados de soja desengordurados explica 88,79% da variabilidade inerente aos CDA da PB destes. Observa-se que os fatores que foram significativos ( $P<0,05$ ) para explicar a digestibilidade da proteína e, portanto, entraram no modelo, são o IPD e o teor de FDN dos derivados de soja. Isso mostra que estes são os principais fatores que afetam a digestibilidade da proteína da soja, sendo que a proteína dispersível afeta positivamente, enquanto o FDN afeta negativamente. Ainda, observa-se que o IPD foi escolhido para entrar no modelo, em detrimento da PSKOH e da urease, demonstrando que este pode ser uma ferramenta mais eficaz para explicar a relação entre o processamento e o CDA da PB da soja, ao invés das demais análises.

Já, para os derivados de soja não desengordurados, foi observado efeito positivo do teor de FDN e negativo do IPD sobre o CDA da PB. Devido aos lipídios

interferirem no processo de extrusão e, por conseguinte, na inativação dos inibidores de tripsina, deprimindo a digestão protéica, há necessidade de equações distintas para derivados de soja desengordurados ou não. O maior teor de proteína dispersível é indicativo de maior digestibilidade da proteína em derivados desengordurados, uma vez que a extrusão da dieta contendo esses ingredientes subprocessados pode ser efetiva em desnaturar os inibidores de proteases. Em contrapartida, esse fato não ocorre de modo eficiente em derivados de soja contendo alto teor de lipídios.

Como exemplo, cabe citar o grão cru de soja e a PIS, os quais possuem atividades ureásicas e dispersibilidades da proteína altas, entretanto o grão cru de soja apresenta o menor CDA da PB, enquanto a PIS o maior CDA da PB. Desse modo, é importante a elaboração de equações de predição distintas para derivados de soja contendo alto ou baixo teor de lipídios.

A correlação positiva entre o teor de FDN e o CDA da PB para os derivados de soja não desengordurados ocorreu em função da soja micronizada apresentar maior teor de FDN e maior digestibilidade da proteína, quando comparada com os grãos de soja. Entretanto, sabe-se que os carboidratos indigestíveis da soja, principalmente as fibras solúveis, são deletérias a digestão protéica. Mas, devido ao processamento da soja micronizada permitir maior exposição dos nutrientes contidos nas células vegetais à hidrólise pelas enzimas digestivas, pode haver compensação desse processo, sobre o possível efeito deletério do seu maior teor de FDN.

Pelo fato de parte das fibras da soja, como fração das  $\beta$ -glicanas, galactanas e substâncias pécticas, não serem contabilizadas na análise de FDN, poderia se considerar a utilização de métodos analíticos mais específicos, como fibra dietética solúvel, por exemplo, para melhorar o referido modelo de predição. No entanto, a praticidade da análise de FDN, em relação à outros métodos mais específicos, pode permitir maior aplicabilidade das equações de predição sugeridas.

Em relação às metodologias de determinação da digestibilidade dos alimentos, observa-se que a FB pode ser um indicador eficaz para avaliação da digestibilidade em cães, embora possa apresentar maior erro de determinação, quando comparada à coleta total de fezes, em função da menor precisão em sua análise química. Já, a CIA deve ser melhor estudada, quanto às metodologias de determinação laboratorial desta, principalmente quanto à concentração de HCl, tempo de fervura da amostra no ácido e tempo de queima na mufla. Ainda, maior atenção deve ser conferida a

dietas contendo alto teor de resíduo mineral, como com alta inclusão de farinhas de origem animal, já que podem resultar em insolubilização incompleta dos minerais solúveis em HCl, sendo estes equivocadamente contabilizados como CIA, superestimando a digestibilidade do alimento.

No presente trabalho, a metodologia adotada para determinação da digestibilidade dos derivados de soja foi a da substituição de 30% da dieta referência pelo ingrediente teste. Para validação do método da substituição adotado, foi conduzido um estudo complementar, no qual se avaliou a digestibilidade do grão cru de soja, por meio do método da substituição, regressão e da diferença. Para tanto, utilizaram-se seis dietas extrusadas contendo crescentes níveis de inclusão de grão cru de soja (0, 6, 12, 18, 24 e 30%) sobre uma dieta referência (0% de soja), as quais foram fornecidas à seis cães adultos, distribuídos em quadrado latino (6 x 6).

Nesse estudo, observou-se que, quanto maior o nível de inclusão do grão de soja, menor o erro padrão da média (EPM) obtido para o CDA da PB pelo método da substituição. No qual o CDA da PB e seu respectivo EPM variaram de  $63,4\% \pm 8,18$ , para 6% de soja crua à  $75,8\% \pm 0,53$ , para 30% de soja crua. Do mesmo modo, para o método da diferença, também se obteve menor EPM, com o maior nível de inclusão do grão de soja, no qual o CDA da PB e seu respectivo EPM variaram de  $72,2\% \pm 4,55$ , para 6% de soja crua à  $77,3\% \pm 0,33$ , para 30% de soja crua. Para o método da regressão, obteve-se o CDA da PB do grão de soja descrito pela equação linear:  $\text{CDA da PB (\%)} = 77,2831 - 0,0805x$  ( $R^2 = 0,99$ ). Na qual o CDA da PB e seu respectivo EPM são:  $77,3\% \pm 0,27$ .

Desse modo, não se observa diferença significativa entre os CDA da PB preditos pelos três métodos para o grão de soja cru ( $P=0,112$ ). Ainda, embora numericamente o EPM seja menor para o método da regressão, seguido pelo da diferença e da substituição, comparando-se os desvios padrões dos vieses dos CDA da PB entre os métodos, estes não diferem entre si ( $P=0,899$ ).

Portanto, os três métodos são recomendados para determinação da digestibilidade de ingredientes para cães. Sendo que os métodos da substituição e da diferença são mais práticos, uma vez que exigem apenas duas dietas (uma referência e outra contendo o ingrediente teste), enquanto o método da regressão exige, no mínimo, quatro dietas para melhor predição da digestibilidade. Por outro lado, o método da regressão permite conhecer os efeitos de crescentes níveis de

inclusão do ingrediente teste sobre uma dieta e qual seria o nível máximo de inclusão recomendado.

Conclui-se, por fim, que, em virtude da importância da aferição do valor nutricional de ingredientes para cães, as metodologias de avaliação da qualidade nutricional de alimentos devem continuar sendo investigadas, uma vez que há escassez de informações sobre o assunto. Esse fato é importante, principalmente, para cães filhotes, em função dos relatos contraditórios encontrados na literatura, sendo necessário mais estudos em cães de diferentes faixas etárias.

Ainda, as metodologias de avaliação do valor nutricional de ingredientes devem ser desenvolvidas visando praticidade, precisão e acurácia na determinação da digestibilidade e energia metabolizável dos ingredientes e dos seus efeitos sobre a palatabilidade, produção de gás intestinal e características das fezes dos cães. A relativa facilidade de mensuração da área de gás intestinal, por meio da radiografia e a boa sensibilidade deste método o torna recomendável para avaliação da produção de gás no intestino de cães. Além disso, as pesquisas também são importantes à geração de dados que possam melhorar modelos de predição da digestibilidade de ingredientes para cães, de modo que estes sejam futuramente utilizados na prática.